



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

BIOAKTIVNÍ LÁTKY FENYKLU OBECNÉHO

BIOACTIVE COMPOUNDS OF FENNEL

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Aneta Nentvichová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.

BRNO 2018

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1274/2017
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Aneta Nentvichová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie
Vedoucí práce: **RNDr. Mária Veselá, Ph.D.**
Akademický rok: 2017/18

Název bakalářské práce:

Bioaktivní látky fenyklu obecného

Zadání bakalářské práce:

1. Charakterizujte a popište rostlinný druh fenyklu obecného.
2. Prostudujte bioaktivní látky v něm obsažené.
3. Připravte extrakty z fenyklu a stanovte obsah vybraných látek pomocí UV–VIS spektrometrie.
4. Ověřte antimikrobiální aktivitu difuzní jamkovou metodou.
5. Experimentální data vyhodnoťte.

Termín odevzdání bakalářské práce: 21.5.2018

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Aneta Nentvichová
student(ka)

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2018

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Cílem této bakalářské práce je prostudování bioaktivních látek obsažených ve fenyklu obecném, stanovení obsahu polyfenolů, flavonoidů a zkoumání antioxidační a antimikrobiální aktivity ve vodných a ethanolových extraktech fenyklu.

Teoretická část je zaměřena na charakteristiku fenyklu obecného, na jeho zařazení v systému, využití a především na bioaktivní látky v něm obsažené. Experimentální část je rozdělena do dvou okruhů, kdy v první části převažuje spektrofotometrické stanovení polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivity. Ve druhé části je věnována pozornost antimikrobiálním účinkům připravených extraktů z fenyklu obecného, které byly aplikovány na dva mikroorganismy *Serratia marcescens* a *Bacillus cereus*.

Provedeným experimentem bylo zjištěno, že antimikrobiální účinek extraktů byl velmi nízký, ve většině případů až téměř zanedbatelný. Nejvíce se účinek projevoval u extraktů v ethanolu, naopak extrakty v horké vodě se projevovaly tak, že růst mikroorganismu *Bacillus cereus* spíše podporovaly. Co se týče druhé poloviny experimentu, byla u extraktů zjištěna antioxidační aktivita i poměrně vysoký obsah polyfenolů a flavonoidů.

ABSTRACT

The aim of this bachelor thesis is to study the bioactive substances contained in fennel, to determine the content of polyphenols, flavonoids and to investigate the antioxidant and antimicrobial activity in aqueous and ethanol extracts of fennel.

The theoretical part discusses the characteristics of fennel, its classification in the system, its use and especially the bioactive substances contained in it. The experimental part is divided into two sections, where the first part focuses on spectrophotometric determination of polyphenols, flavonoids and antioxidant activities. In the second part the antimicrobial effects of prepared extracts of fennel were examined. Two microorganisms *Serratia marcescens* and *Bacillus cereus* were exposed to the said extracts.

Antioxidant activity and relatively high content of polyphenols and flavonoids were found in the extracts in the first experimental part. The second experimental part proved that the antimicrobial effect of the extracts was very low, in most cases almost negligible. Ethanol extracts showed higher antimicrobial activity, while hot water extracts found to support the growth of *Bacillus cereus*.

KLÍČOVÁ SLOVA

Fenykl obecný, bioaktivní látky, antimikrobiální aktivita, UV-VIS spektrofotometrie

KEY WORDS

Fennel, bioactive substances, antimicrobial activity, UV-VIS spectrophotometry

CITACE

NENTVICOVÁ, A. *Bioaktivní látky fenyklu obecného*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 44 s. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Mária Veselá, Ph.D..

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem citovala správně a úplně. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

podpis studenta

Poděkování

Mockrát bych chtěla poděkovat vedoucí mé bakalářské práce RNDr. Márii Veselé, Ph.D. za cenné rady, odborné vedení a ochotu při daných konzultacích, které byly klíčové pro zpracování mé bakalářské práce.

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	Původ fenyklu obecného	9
2.2	Charakteristika fenyklu	9
2.3	Taxonomické zařazení fenyklu	10
2.4	Využití a účinek fenyklu v jednotlivých oblastech	10
2.4.1	Využití v kuchyni.....	10
2.4.2	Využití zdravotní	10
2.4.3	Využití v kosmetice	11
2.4.4	Negativní účinky	11
2.5	Bioaktivní látky	11
2.5.1	Primární produkty rostlin.....	11
2.5.1.1	Sacharidy	11
2.5.1.2	Lipidy.....	11
2.5.1.3	Proteiny.....	12
2.5.1.4	Aminokyseliny.....	12
2.5.1.5	Vitamíny	12
2.5.2	Sekundární produkty rostlin.....	12
2.6	Bioaktivní látky ve fenyklu	13
2.6.1	Antioxidanty	13
2.6.2	Polyfenoly	14
2.6.3	Flavonoidy	14
2.6.4	Obsah vitamínů	15
2.6.5	Terpeny	17
2.6.6	Silice	17
2.6.6.1	Anetol	17
2.6.6.2	Fenchon	18
2.6.6.3	Estragol.....	18
2.6.6.4	Limonen	18
2.6.6.5	Pinen	19
2.6.6.6	Kamfen.....	19
2.6.7	Kumariny	19
2.6.8	Ftalidy a polyacetyleny	19
2.6.8.1	Ftalidy	19

2.6.8.2	Polyacetyleny	19
2.6.9	Hořčičny.....	19
2.6.10	Saponiny.....	20
2.6.11	Antimikrobiální účinky	20
2.7	Metody stanovení bioaktivních látek	20
2.7.1	UV/VIS Spektrofotometrie	20
2.7.2	Biochemické stanovení bioaktivních látek	20
2.7.3	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC).....	21
2.7.4	Nadkritická fluidní extrakce (SFE).....	21
2.7.5	Mikrobiologické stanovení	21
2.7.5.1	Difúzní metody	21
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	23
3.1	Seznam použitého vybavení a pomůcek	23
3.1.1	Přístroje.....	23
3.1.2	Chemikálie	23
3.2	Analyzované vzorky.....	24
3.2.1	Použité vzorky	24
3.2.1.1	Fenyklový čaj	24
3.2.1.2	Celé plody fenyklu.....	24
3.2.1.3	Drcené plody fenyklu	25
3.2.2	Příprava vzorků.....	25
3.2.2.1	Příprava vodného extraktu z bio fenyklového čaje	25
3.2.2.2	Příprava ethanolového extraktu z bio fenyklového čaje.....	25
3.2.2.3	Příprava vodného extraktu z plodů fenyklu.....	25
3.2.2.4	Příprava ethanolového extraktu z plodů fenyklu	25
3.2.2.5	Příprava vodného extraktu z drcených plodů fenyklu	25
3.2.2.6	Příprava ethanolového extraktu z drcených plodů fenyklu	25
3.2.3	Stanovení celkových polyfenolů spektrofotometricky	26
3.2.3.1	Pracovní postup	26
3.2.3.2	Příprava standardu a kalibrační křivky	26
3.2.4	Stanovení celkových flavonoidů spektrofotometricky	27
3.2.4.1	Pracovní postup	27
3.2.4.2	Příprava standardu a kalibrační křivky	27
3.2.5	Stanovení antioxidační aktivity	28
3.2.5.1	Pracovní postup	28

3.2.6	Stanovení antimikrobiální aktivity.....	28
3.2.6.1	Příprava živného média	28
3.2.6.2	Použité mikroorganismy.....	28
3.2.6.3	Pracovní postup	28
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	30
4.1	Stanovení celkových polyfenolů	30
4.2	Stanovení celkových flavonoidů	32
4.3	Stanovení celkové antioxidační aktivity.....	34
4.4	Stanovení antimikrobiální aktivity	35
5	ZÁVĚR.....	38
6	POUŽITÁ LITERATURA	39
7	SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	43
8	PŘÍLOHY	44

1 ÚVOD

V poslední době se lidstvo ve spoustě ohledů navrací k prapůvodním zvykům a není tomu jinak ani v medicíně. Rostliny jsou od pradávna zdrojem léčivých látek, které mají blahodárné účinky na náš organismus, ať už při vnitřním užívání v podobě čajů, nebo zevním užíváním v podobě kosmetických přípravků. Rostliny a rostlinné výrobky jsou v dnešní době velmi vyhledávanými produkty, protože se lidé snaží ustupovat věčným a leckdy neúčinným práškům a poptávka po kvalitních výrobcích stoupá.

Jednou z takto významných a prospěšných rostlin je i Fenykl obecný (*Foeniculum vulgare*), který je velmi bohatý na bioaktivní látky, jako jsou především antioxidanty, vitamíny a spousta dalších. Fenykl má různorodé využití v kosmetice, v kuchyni a také jako konzervační činidlo u potravin. Náplní této bakalářské práce je v teoretické části charakterizovat Fenykl obecný jako takový, popsat jej, zařadit do systému a především popsat bioaktivní látky v něm obsažené. Experimentální část je poté věnována stanovení obsahu polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivity. Druhou částí experimentu je poté mikrobiologické stanovení difúzní jamkovou metodou pomocí mikroorganismů *Serratia marcescens* a *Bacillus cereus*, za účelem vyzkoušení antimikrobiální aktivity daných vodných a ethanolových extraktů.

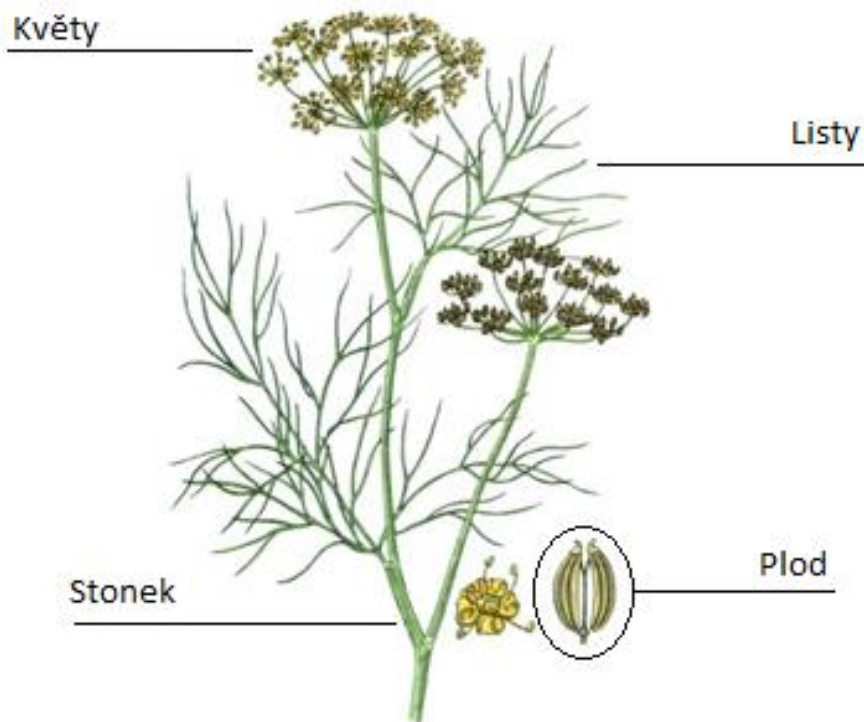
2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Původ fenyklu obecného

Fenykl obecný (*Foeniculum vulgare*) je víceletá bylina využívána od nepaměti. Historie fenyklu sahá až do starověkého Řecka a Říma, odkud je odvozen i jeho rodový název. Ve středověku byl fenykl symbolem dobra pro zahánění zlých sil. Nejvíce rozšířen je především ve středomořské oblasti, Asii i v České republice, kde je pěstován především na jižní Moravě. Aby fenykl prospíval a produkoval kvalitní plody, je třeba mu zajistit slunečný velký prostor pro jeho růst a dostatečné množství vláhy [1].

2.2 Charakteristika fenyklu

Dužnatý kořen fenyklu je velmi silný a drží celou bylinu pevně v zemi. Tělo fenyklu tvoří štíhlý a vysoký stonek, který dosahuje výšky až dva metry a nese zpeřené nitkovité listy, které jsou velmi aromatické. Fenykl kvete hroznovitým květenstvím, přesněji se jedná o složené okolíky. Kvetení probíhá, s typickými žlutými květy, od začátku července do konce srpna. Plodem fenyklu je podlouhlá, oválná dvounažka šedohnědé barvy připomínající kmín. Semeno fenyklu má charakteristickou anýzově lékořicovou vůni s lehce nasládlou štiplavou chutí. Obsahově jsou semena fenyklu dosti bohatá na chemické a velice prospěšné látky [2,3].



Obrázek 1 Nákres fenyklu obecného [4]

2.3 Taxonomické zařazení fenyklu

Taxonomicky můžeme tuto bylinu zařadit do čeledi miříkovitých spolu s dalšími významnými bylinami jako je petržel, kopr, koriandr, celer a spoustou dalších. Miříkovité jsou dvouděložné, krytosemenné rostliny. Jedná se především o jednoleté, dvoulété či vytrvalé byliny velice zřídka se jedná o keř. Jejich lodyha je vzpřímená, dutá a článkovaná. Zpeřené listy na stonek usedají střídavě, širokou pochvou. Květy jsou často pětičetné, menšího vzrůstu. Malé kvítky se sdružují v okolíčnatá květenství a ta se mohou sdružovat do složených okolíků. Okolíky mohou být vyztuženy listeny, kterým se také říká obaly. Plodem této čeledi je dvounažka, která může být oválná, hladká nebo rýhovaná [5].

2.4 Využití a účinek fenyklu v jednotlivých oblastech

2.4.1 Využití v kuchyni

Celá rostlina fenyklu je silně aromatická, ovšem nejvyšší obsah silic se nachází v semenech fenyklu. Z tohoto faktu vyplývá, že nejužívanější částí této rostliny jsou samozřejmě semena. Listy a hlíza jsou obohaceny vitamíny B a C, a proto jsou vyhledávány jako přísady v kuchyni, kde výrazně dochucují pokrmy a navíc dodávají tělu potřebné látky. Nejen, že se fenykl užívá do příprav různých polévek, salátů, omáček a spousty dalších pokrmů, ale má pro své typické aroma i velké využití při výrobě likérů. Jedním z nejznámějších likérů, ve kterém je obsažen fenykl, je například Absint. Základem Absintu je především fenykl, anýz a pelyněk, které tvoří takzvanou svatou trojici. Navíc se samozřejmě mohou přidávat i jiné byliny pro dodání chuti [6,7].



Obrázek 2 *Fenykl obecný* [8]

2.4.2 Využití zdravotní

Fenykl, co se týče využití mimo kuchyni, má velmi pozitivní účinky na zažívací trakt pro osoby i děti jakéhokoliv věku. Nejen, že tlumí nadýmání, ale také výrazně zlepšuje procesy trávení s tím je spjato i to, že eliminuje nepříjemný zápach z úst. Významně také napomáhá při menstruačních bolestech. Velice často se ze semen fenyklu vyrábí čaje pro kojící matky, kterým napomáhá pro tvorbu mléka při kojení. Fenykl je vyhledávanou bylinou při onemocnění dýchacích cest, protože tlumí dráždivý kašel a napomáhá při vykašlávání hlenů. Fenykl má močopudné účinky, a proto je hojně využíván při potížích s urogenitálním traktem. Taktéž napomáhá i k vyloučení toxinů z našeho těla a dokonce je prý pomocníkem při boji s obezitou, protože způsobuje pocit nasycenosti a tím zamezuje dalšímu příjmu potravy [9,10].

2.4.3 Využití v kosmetice

Máme spousty využití, kdy se nespotřebovává čerstvý nebo sušený fenykl, ale pouze jeho silice nebo odvar z této byliny. Odvar z fenyklu je oblíbený v kosmetice, kde se přidává do pleťových vod a šamponů. Jako pleťová voda slouží pro odmaštění pleti. Silice vyextrahované z fenyklu mají bohaté využití v kosmetických přípravcích. Přidávají se do mýdel, vod po holení, zubních past a spousty dalších [9].

2.4.4 Negativní účinky

Fenykl má spoustu využití a obsahuje velmi prospěšné látky pro nás jako pro člověka. Dle lékařů by se mělo s fenyklem i ostatními bylinami nakládat jako s léky. Nic se nemá přehánět, a tak při dlouhodobém a nadměrném užívání fenyklu může dojít k různým alergickým reakcím, bolestem břicha a dalším příznakům, při kterých je důležité ihned vyhledat lékařskou pomoc [5].

2.5 Bioaktivní látky

Bioaktivní látky jsou významné a velice důležité látky v potravinách. Z výživového hlediska nejsou nijak podstatné, ale mají zdraví podporující charakter, který je pro naše tělo nezbytný. Významným zdrojem bioaktivních látek bývají právě rostliny. Bioaktivní látky bývají označovány jako tak zvané sekundární rostlinné látky. Slovo sekundární nám udává, že tyto látky vznikají až na druhém místě při tak zvané sekundární látkové výměně a nejsou nijak zahrnuté do důležitých procesů rostliny, jako je například růst, vývoj a rozmnožování. Naopak při primární látkové výměně vznikají produkty, které jsou nezbytné pro základní životní funkce rostlin. Jedná se o sacharidy, lipidy, proteiny a aminokyseliny. Sekundární rostlinné látky jsou vědci stále více a více objevovány. Dříve byly zkoumány a vědci označovány spíše za neprospěšné látky a látky škodící, tento názor byl postupem času vyvrácen. V dnešní době se věda stále těmito látkami zabývá a hlásí jeden úspěch za druhým. Látky z rostlin, jak se prokázalo, jsou úspěšné nejen při boji s rakovinou, ale také při obraně proti bakteriím, plísním a virům [11].

2.5.1 Primární produkty rostlin

2.5.1.1 Sacharidy

Sacharidy jsou významnou složkou všech rostlinných i živočišných organismů. Jsou významným zdrojem energie pro funkci metabolických procesů. Spolu s bílkovinami a lipidy se řadí k hlavním živinám. Mají důležitou zásobní a stavební funkci, jsou základní stavební jednotkou mnoha buněk a chrání tyto buňky před vnějšími vlivy. Dle počtu cukerných jednotek je můžeme dělit na monosacharidy, oligosacharidy a polysacharidy. Monosacharidy obsahují jednu cukernou jednotku, významným a hojně zastoupeným monosacharidem v přírodě je například glukosa. Oligosacharidy se skládají ze dvou až deseti stejných nebo různých monosacharidů spojených glykosidickou vazbou [12].

2.5.1.2 Lipidy

Lipidy jsou estery vyšších mastných kyselin a alkoholu nejčastěji glycerolu. Jsou to látky, které jsou prakticky nerozpustné ve vodě, ale rozpustné například v chloroformu. Mají zásobní, stavební a energetickou funkci. Hrají významnou roli jako složka rostlin, potravin a jsou podstatnou součástí přijímaných živin, které jsou nezbytné

pro vývoj a zdraví člověka. Mastné kyseliny jsou velice důležitou složkou lipidů po výživové stránce [12,13].

2.5.1.3 *Proteiny*

Proteiny jsou organické látky, které se skládají z více než stovky aminokyselin. Aminokyseliny jsou vázány peptidovou vazbou. Proteiny jsou stavební součástí buněčných struktur, enzymy jsou organické katalyzátory, které řídí jednotlivé reakce. Jsou základními chemickými složkami všech buněk a tím i téměř všech potravin, ať už rostlinného nebo živočišného původu. Spolu s polysacharidy, nukleovými kyselinami a někdy také s lipidy je můžeme řadit mezi biopolymery [12,13].

2.5.1.4 *Aminokyseliny*

Aminokyseliny jsou organické kyseliny, které obsahují nejméně jednu aminovou a karboxylovou skupinu. Jsou, jak již bylo zmíněno, základní stavební jednotkou proteinů a peptidů. Rozlišujeme aminokyseliny esenciální a neesenciální. Esenciální aminokyseliny si organismus nedokáže sám syntetizovat, a proto musí být přijímány v potravě (například leucin). Neesenciální aminokyseliny vznikají v organismu z meziproductů metabolismu cukrů a tuků (například alanin). Rozeznáváme dvacet jedna základních aminokyselin [12].

2.5.1.5 *Vitamíny*

Vitamíny jsou organické nízkomolekulární sloučeniny, které jsou nezbytné pro život. Organismus si je nedokáže sám syntetizovat, proto musí být přijímány v potravě. Velká část vitamínů patří mezi biokatalyzátory, jsou součástí enzymů a účastní se energetických pochodů v buňce. Dle rozpustnosti je rozdělujeme na dvě hlavní skupiny- rozpustné v tucích a rozpustné ve vodě. Mezi vitamíny rozpustné v tucích patří vitamíny A, D, E, K a mezi vitamíny rozpustné ve vodě patří vitamíny B-komplexu a C [12].

2.5.2 Sekundární produkty rostlin

Tabulka 1 *Přehled některých bioaktivních látek, jejich zdroj a účinek* [11,14]

Sekundární rostlinné látky	Zdroj	Účinky těchto látek
Karotenoidy	Mrkev, tykev, rajčata	Prevence rakoviny, antioxidační účinky, ochrana proti rakovině, snižují hladinu cholesterolu v krvi
Polyfenoly	Třešně, červené zelí, bobuloviny	Antioxidační účinky, brzdí krevní srážlivost, předchází tvorbě rakoviny, potlačují mikroorganismy, regulují krevní tlak a hladinu krevního cukru
Glukosinoláty	Brokolice, červené zelí, kedlubn, hořčice, křen	Předchází vzniku rakoviny, vypuzují nežádoucí mikroorganismy

Sekundární rostlinné látky	Zdroj	Účinky těchto látek
Terpeny	Citrony, máta	Prevence rakoviny, vliv na trávení
Sulfidy	Cibule, česnek, pórek	Antibakteriální, antivirové a protizánětlivé účinky, posilování imunity, regulace krevního tlaku, snižování cholesterolu, prevence rakoviny
Antioxidanty	Bobuloviny, ořechy, čokoláda, čaj, káva, ovoce, zelenina	Prevence rakoviny, onemocnění srdce a očí
Fytosteriny	Slunečnicová a sezamová semínka, sójové boby	Snižují hladinu cholesterolu a mohou předcházet vzniku rakoviny tlustého střeva
Saponiny	Luštěniny	Potlačují mikroorganismy, brání vzniku rakoviny, jsou protizánětlivé
Fytoestrogeny	Obilniny, zelenina	Předchází rakovině prsu a dělohy
Kyselina fytanová	Obilniny, luštěniny	Pozitivní vliv na hladinu krevního cukru, prevence rakoviny

2.6 Bioaktivní látky ve fenyklu

Fenykl, který zařazujeme do koření je velmi bohatý na bioaktivní látky. Je hojně označován jako přírodní antioxidant. Jedná se o všestrannou bylinu, tím je myšleno, že se využívají všechny její části. Nejvíce využívána jsou ovšem semena, která jsou plná rozmanitých bioaktivních látek [11].

2.6.1 Antioxidanty

Antioxidanty jsou látky, které spolu s vitamíny a minerály jsou označovány jako zázrak medicíny. Podstatnou funkcí antioxidantů je boj proti volným radikálům nejčastěji kyslíkovým, někdy také například dusíkovým. Volné radikály jsou molekuly, které mají nedostatek elektronů, konkrétně jim chybí jeden elektronový pár. Právě díky nedostatku elektronů se stávají nebezpečnými a napadají v těle cokoli, co jim přijde do cesty, aby za každou cenu doplnily svoji chybějící část. Při putování tělem ničí zdravé molekuly bílkovin, buněčných membrán, tuků a DNA. Při dlouhodobějším působení výrazně ovlivňují chod těla a způsobují velké množství onemocnění, jako je například rakovina, Parkinsonova choroba, Alzheimerova choroba a artroskleróza. Boj probíhá tak, že antioxidant volný radikál obklopí a předá mu svůj elektronový pár, čímž sám se stane volným radikálem, ale nikoliv škodlivým. Jejich funkčnost není vždy pouze negativní, při pohybu v těle mohou útočit

i obranně například v boji proti bakteriím a virům, nebo například napomáhají potravinám mít delší trvanlivost.

Antioxidanty jsou v dnešní době stále objevovanými látkami, které jsou pro nás neustálým překvapením. Je vědecky dokázáno, že osoby, které konzumují potraviny s bohatým zastoupením antioxidantů, mají nižší riziko infarktu, rakoviny a dalších onemocnění. Zdrojem antioxidantů jsou především rostlinné produkty, jako jsou ovoce, zelenina, byliny a spousta dalších potravin. Většinu antioxidantů tedy přijímáme v potravě, ale některé antioxidanty si dokáže tělo vytvářet samo. Příkladem antioxidantů, které si tělo umí vytvořit je například superoxid dismutáza nebo více známý koenzym Q10. Přirozená hladina antioxidantů s věkem klesá, proto se doporučuje přijímat je především v potravě nebo také v potravinových doplňcích. Ve fenyklu můžeme nalézt velkou spoustu antioxidantů, které bych níže ráda zmínila [15,16].

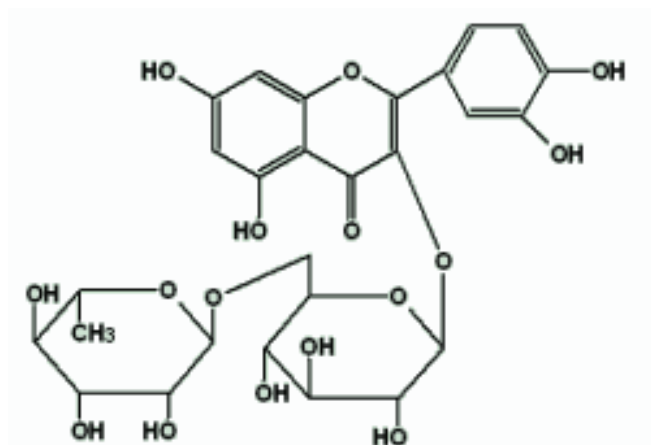
2.6.2 Polyfenoly

Polyfenoly jsou velmi různorodá a obsáhlá skupina látek s různými účinky. Tyto látky působí jako antioxidanty spolu s vitamíny a dalšími látkami. Polyfenoly se vyskytují především v ovoci a zelenině, ale můžeme je také najít například v čaj nebo extra panenském olivovém oleji. Můžeme je rozdělit do čtyř skupin a to na fenolové kyseliny, flavonoidy, stilbeny a lignany. Fenykl obsahuje především flavonoidy, kterými se dále budeme zabývat. Ostatní polyfenoly fenykl buď vůbec neobsahuje, nebo v zanedbatelném množství. Polyfenoly jsou důležitými antioxidanty, které chrání tělo před volnými radikály a zároveň chrání tělní buňky před poškozením, srdečními chorobami a celkovému stárnutí organismu. Snižují riziko výskytu rakoviny, podporují hubnutí a zdraví mozku, zlepšují náladu, pomáhají chránit pokožku před UV zářením a také potlačují zánět [17].

2.6.3 Flavonoidy

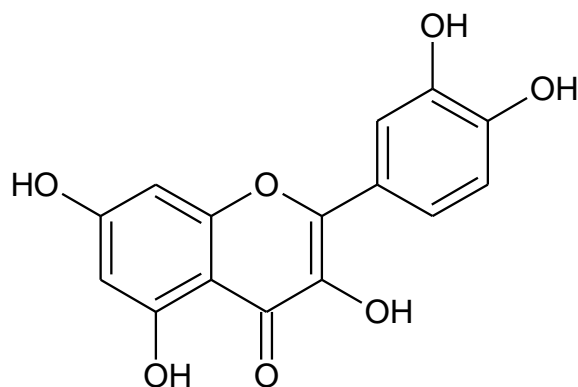
Flavonoidy jsou organické sloučeniny, které můžeme najít ve všech zelených potravinách, zelenině, ovoci a bylinkách. Jsou také významnými antioxidanty, zabraňují růstu nádorů, posilují imunitu a jsou prevencí proti chorobám. Navíc zvyšují účinnost vitamínů A, E a betakarotenu. Flavonoidy působí proti zánětům, brání množení patogenů, brání růstu nádorů a působí proti srážení krve. V dnešní době jsou flavonoidy stále objevovanými látkami a jsou pro nás stále větším a větším překvapením. Tyto látky můžeme nalézt prakticky v jakékoliv části rostliny, od stonků až po plody. Flavonoidy jsou barviva, proto dodávají rostlině charakteristické zbarvení. Ve fenyklu jsou nejdůležitějšími flavonoidy rutin a kvercetin [18,19].

Rutin je přirozený glykosid ze skupiny flavonoidů, někdy bývá také označován, jako vitamín P. Rutin je chemická pevná látka žlutavé barvy, která je pouze částečně rozpustná ve vodě. Rutin se objevuje v léčivých potravinových doplňcích, kde bývá doprovázen vitamínem C, který jeho funkčnost zesiluje. Má spoustu pozitivních účinků na naše tělo. Jeden z nejdůležitějších je, že posiluje stěny cév a snižuje hladinu LDL cholesterolu v krvi. Dále působí antioxidantně a je prevencí proti rakovině. Posiluje srdce, roztahuje cévy a tím zlepšuje prokrvení orgánů [20].



Obrázek 3 Chemická struktura rutinu [21]

Kvercetin je přírodní látka patřící také k flavonoidům. Obsažen je ve spoustě druhů ovoce a zeleniny a také ve fenyklu. Na rozdíl například od vitamínů se při tepelné úpravě, či zmražením neničí. Patří také k silným antioxidantům a má významné protinádorové účinky. Dále působí proti zánětům, infekcím, trombóze a pomáhá udržovat čisté a průchodné cévy. Kvercetin je také účinný na tlumení alergických reakcí, v léčbě astmatu, v napomáhání snížit zánět a také eliminuje bolest. Kvercetin má efekt při hubnutí, protože údajně zabraňuje vstřebávání sacharidů do těla. Nicméně tento aspekt ještě není zcela prozkoumán [22,23].



Obrázek 4 Chemická struktura kvercetinu

2.6.4 Obsah vitamínů

Fenykl je velice bohatý na vitamíny B, C a E. Tyto vitamíny jsou nejvíce účinné v syrové formě, jakmile je fenykl tepelně upraven ztrácí plno hodnoty a stává se méně účinným.

Vitamín B je často nazýván souhrnným názvem jako B-komplex, kam spadají veškeré vitamíny skupiny B. Je to skupina vitamínů rozpustných ve vodě a jsou nezbytnou složkou našeho těla. V potravinách jsou hlavním zdrojem tohoto vitamínu především kvasnice, maso, sýry, ale také zelenina, ořechy a luštěniny. Při nedostatku vitamínu B se projevují velké nepříjemnosti, jako mohou být afty, ekzémy, padání vlasů, špatná nálada, nespavost, únava a také zácpa. Lidem, kteří mají zvýšenou fyzickou nebo psychickou zátěž se doporučuje konzumovat větší dávky tohoto vitamínu nebo užívat potravinové doplňky. Jak již bylo zmíněno vitamínů B je velká spousta, ale každý má účinek na jinou část našeho těla [24].

Tabulka 2 *Přehled jednotlivých vitamínů zahrnutých do souboru B-komplex [24]*

Daný vitamín	Zdroj	Účinek
B1 (thiamin)	pivovarské kvasnice, maso, obilniny, luštěniny a brambory	Je důležitý pro správnou funkci srdce a jater. Má příznivý vliv na deprese, migrény a dobrou paměť.
B2 (riboflavin)	mléko, luštěniny, špenát, kapusta, brokolice, obilniny a vejce	Podporuje tvorbu enzymů zpracovávající cukry a naopak odbourávající tuky a bílkoviny.
B3 (niacin)	maso, mléko, kvasnice, vejce a listová zelenina.	Upravuje krevní tlak, brání vzniku cukrovky a snižuje hladinu cholesterolu v krvi.
B6 (pyridoxin)	maso, ryby, játra, vejce ořechy kapusta, mrkev a kvasnice	Odstraňuje afty, koutky a příznivě působí na psychiku člověka.
B7 (biotin)	vnitřnosti, mléko, sója, rýže, vodní meloun, žlutky, ananas a houby	Způsobuje zdravou pleť, kvalitní vlasy a nehty a navíc upravuje hladinu cukru v krvi.
B9 (kyselina listová)	listová zelenina, játra a kvasnice	V období těhotenství má příznivý vliv na vývoj plodu a snižuje vysoký krevní tlak.
B12 (cobalamin)	mléčné výrobky, vejce a játra	Působí jako prevence proti krevním chorobám

Vitamín C je jeden z nejdůležitějších vitamínů vůbec, který spadá do skupiny vitamínů rozpustných ve vodě, tedy hydrofilních, což také znamená, že nespotřebované množství vitamínu je vyloučeno močí z těla ven. Lidský organismus tento vitamín nedokáže syntetizovat si sám, proto je nezbytné přijímat jej v potravě, nebo v potravinových doplňcích. V potravě je vitamín C nejvíce zastoupen v citrusových plodech a celkově v ovoci, ale také v zelenině nebo například v šípcech. Je velmi významným antioxidantem a nezbytný při tvorbě chrupavek a kolagenu u pojivových tkání. Výrazně zlepšuje hojení po úrazech a popáleninách. Vitamín C celkově posiluje imunitní systém, zvyšuje odolnost těla proti infekcím a nachlazení. Při nedostatku vitamínu C v těle se projevují jisté příznaky, jako je nachlazení, rýma, únava, záněty dásní, suchá kůže a také chudokrevnost. Během velké sportovní nebo psychické zátěže se velmi rychle tento vitamín v těle spotřebovává, proto je vhodné užívat vyšší dávky tohoto vitamínu ať už v potravě, nebo v potravinových doplňcích [16,25].

Vitamín E je obecně skupina látek, které jsou nazývané tokoferoly. Vitamín E je jako jediný z uvedených vitamínů, které jsou obsažené ve fenyklu, rozpustný v tucích. Je to velmi významný antioxidant, spolu s vitamínem C. Vitamín E se hojně vyskytuje v potravinách rostlinného původu. Významným zdrojem vitamínu E jsou obilné klíčky, semínka, sója, mák, rostlinné oleje a ořechy. V malém množství se tento vitamín vyskytuje i v mase. Vitamín E napomáhá v boji proti rakovině a arterioskleróze. Velmi výrazně zvyšuje detoxikační schopnost jater, je využíván proti neplodnosti, opakovaných potratech a poruchách menstruačního cyklu. Při nedostatku vitamínu E v těle může docházet k různým typům

poruch, jako je porucha zraku, suchá kůže, únava, záněty v zažívacím traktu, neplodnost, onemocnění srdce, stařecké skvrny a špatné hojení ran [26,27].

2.6.5 Terpeny

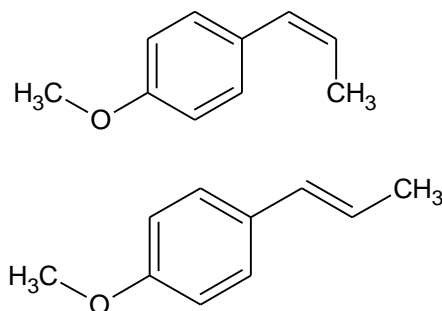
Terpeny jsou přírodní látky převážně rostlinného původu, můžeme je ale také nalézt u hmyzu v podobě feromonů. Tato skupina látek je charakteristická tím, že ve své molekule obsahuje pouze atom vodíku a uhlíku. Dle počtu izoprenových jednotek můžeme terpeny rozdělovat na monoterpeny, triterpeny, tetraterpeny a polyterpeny. Na zmíněné izoprenové jednotky mohou být navázány různé funkční skupiny, na základě kterých mohou být terpeny brány jako aldehydy, ketony, alkoholy nebo karboxylové kyseliny. Hlavní složkou, která patří do skupiny terpenů, jsou silice [28].

2.6.6 Silice

Silice jsou těkavé olejovité látky lehčí než voda. Jde o velmi rozmanitou a obsáhlou skupinu látek, proto se vlastnosti mohou dosti lišit. Některé mohou být bezbarvé jiné zase přirozeně zbarvené, taktéž to může být i se strukturou, některé jsou kapalné, jiné zase částečně tuhnou. Při poranění rostliny tyto látky vytékají a na vzduchu oxidují a mění se na pryskyřice, tímto rostlinu chrání před bakteriální nebo houbovou infekcí. Směsi silic a pryskyřic se používají na výrobu balzámů. Silice jsou intenzivně vonné látky s palčivou chutí, z toho důvodu si našly využití především jako ochrana rostlin proti býložravcům a díky svému aroma mají také využití jako přídavek do vůní a léčiv [11]. Éterické oleje připravované ze silic fenyklu jsou často používány do aromalamp, které provoní celý dům. Fenykl obsahuje silice mezi jedním až šesti procenty, obsah silic je závislý především na místě pěstování a na odrůdě fenyklu, či je sladká nebo naopak hořká. Silice se z přírodních látek destilují. Hlavními látkami, které silice obsahují, jsou anethol, fenchon a estragol. Dalšími známými a vcelku dosti zastoupenými látkami jsou navíc limonen a pinen [29].

2.6.6.1 Anetol

Jakmile semena dozrají a usuší se, jsou připravena ke sklizení. Průmyslově se z nich extrahuje anetol přesněji řešeno trans-anetol, což je aromatická sloučenina způsobující charakteristickou lékořicovou chuť a vůni. Anetolu najdeme v semenech dostatečné množství, odhaduje se padesát až sedmdesát pět procent. Anetol je hodně sladký, i přesto je jeho chuť vnímána za příjemnou. Ovšem má i své negativní vlastnosti, jako je například jeho toxicita. Toxicita není příliš velká, avšak při větších dávkách může být dráždivá především v zažívacím traktu [30,31].



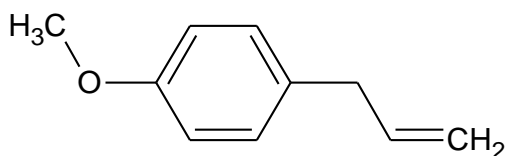
Obrázek 5 Chemická struktura cis anetolu (nahore) a trans anetolu (dole)

2.6.6.2 Fenchon

Spolu s anetolem se ze semen fenyklu průmyslově extrahuje fenchon, což je aromatická sloučenina, která způsobuje hořkou, až nepříjemnou chuť. Obsahově je ve fenyklu zastoupen méně než anetol odhaduje se deset až dvacet procent. Právě anetol a fenchon, které bývají součástí léčiv, mohou za lepší vykašlávání, zbavování se hlenů a celkové pročištění dýchacích cest [31].

2.6.6.3 Estragol

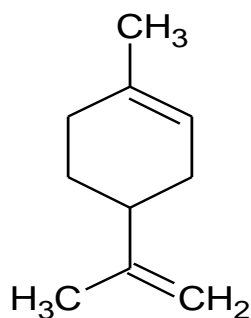
Estragol je přírodní organická sloučenina, která je izomerem anetolu. Ve fenyklu je estragol obsažen dvěma až pěti procenty. Estragol samotný je často užívaný jako přídatná látka do parfémů a kosmetiky. Estragol je podezříván z karcinogenních účinků, z toho důvodu se doporučuje omezit jeho konzumaci zvláště u dětí, tím je myšleno jeho vcelku minimální množství v dětských čajích a čajích pro kojící matky. Tyto informace jsou pouze domněnkami, nikoliv ověřená fakta [32].



Obrázek 6 Chemická struktura estragolu

2.6.6.4 Limonen

Limonen je uhlovodík, který řadíme mezi cyklické terpeny. Stejně jako ostatní silice je téměř nerozpustný ve vodě, ale je rozpustný například v alkoholu. Je to kapalná látka, při pokojové teplotě bezbarvá, která velmi silně voní po citrusových plodech, zejména po pomerančích. Název limonen je odvozen od citronu, který obsahuje velké množství této silice ve své kůře. Limonen je dále obsažen v mátě, levanduli, muškátovém oříšku a právě i ve zmíněném fenyklu. Limonen je běžně užíván pro výrobu kosmetických přípravků, léků a při výrobě a ochucování potravin. Dále je používán jako vonná silice do esencí a olejů, také jako insekticid a do mycích prostředků jako citronovo-pomerančové aroma. Limonen určitým způsobem působí proti růstu nádorů především nádoru prsu, navíc posiluje jaterní činnost [33].



Obrázek 7 Chemická struktura limonenu

2.6.6.5 Pinen

Pinen je organická sloučenina, která patří mezi terpeny. Je opticky aktivní, proto se vyskytuje ve dvou formách alfa-pinen a beta-pinen. Tyto isomery jsou hojně zastoupeny v olejích jehličnatých stromů, zejména borovic, ale také v kořeni i ve fenyklu. Jsou hojně užívány při vaření a také působí jako konzervační činidlo. Alfa-pinen prokazuje výrazné mikrobicidní účinky proti všem houbám a plísním, navíc vykazuje protizánětlivé účinky na lidské tělo. Beta-pinen zmírňuje úzkost a depresi u člověka, takže dá se říci, že má vliv na psychickou stránku člověka [34].

2.6.6.6 Kamfen

Kamfen je bicyklický monoterpen, který je velmi aromatický. Je nerozpustný ve vodě, ale dobře rozpustný v organických rozpouštědlech, navíc při pokojové teplotě se vypařuje. Kamfen je přidáván do vonných esencí a je součástí netradičních olejů, jako je například zázvorový olej. Stejně jako limonen je užíván do insekticidů a u člověka má blahodárné účinky, protože pozitivně působí proti plísňovým onemocněním, proti kožním infekcím a dermatitidě. Z těchto důvodů je kamfen hojně obsažen právě v produktech, které zabezpečují péči o pleť. Nejen, že působí proti plísňovým infekcím, ale také proti virovým a bakteriálním, které postihují dýchací systém. Taktéž předchází bronchitidě, tuberkulóze a rakovině. Kamfen působí i jako antioxidant a snižuje krevní tlak [35].

2.6.7 Kumariny

Kumariny jsou pevné aromatické látky, které se nejčastěji vyskytují právě u čeledi miříkovitých ve formě volné nebo vázané ve sloučeninách pomocí glykosidických vazeb. Jejich zápach připomíná usušené seno a jejich účinky jsou spíše pozitivní, avšak někdy při velkém množství mohou být i negativní. Jako jeden z nejdůležitějších pozitivních účinků je snižovat srážlivost krve, tlumit křeče, podporovat srdeční činnost a u rostlin fungují jako ochranné látky proti hmyzu. Naopak při nadměrném užívání mohou vyvolat bolesti hlavy, závratě, alergické reakce a různé otoky [36].

2.6.8 Ftalidy a polyacetyleny

2.6.8.1 Ftalidy

Ftalidy jsou rostlinné látky, které velmi příznivě působí na naše tělo. Tyto látky jsou hojně obsaženy v celeru i petrželi, ale v menším množství je můžeme nalézt právě i ve fenyklu. Ftalidy působí na stěny artérií a vyvolávají jejich uvolňování, tím se zvyšuje krevní průtok a snižuje se krevní tlak. Další důležitou vlastností je, že snižují hladiny stresových hormonů, které se podílejí na vzniku kdejakých nemocí [11].

2.6.8.2 Polyacetyleny

Polyacetyleny jsou taktéž rostlinné látky, můžeme je také nalézt v mořských houbách. Fungují jako odpuzovače proti hmyzu u rostlin, u člověka mají velmi pozitivní vliv na snížení zánětů. Spolu s ftalidy tlumí tvorbu nádorových buněk a podporují odstranění těchto buněk, pokud už se v těle nachází [11].

2.6.9 Hořčičny

Hořčiny jsou chemické látky, mezi které se například řadí alkaloidy a glykosidy. Do této skupiny se řadí prakticky veškeré látky hořké chuti. Právě jejich hořká chuť způsobuje dráždění chuťových receptorů v ústech a tím i tvorbu slin. Následně v žaludku působí na sliznici a tím zvyšují tvorbu trávicích enzymů a žaludečních kyselin. Díky svým vlastnostem způsobuje větší chuť k jídlu a celkově přispívá k dobrému trávení. Ve fenyklu jsou obsaženy

především v jeho semenech. V menších dávkách mají velmi pozitivní účinky, užívají se při anorexii pro zlepšení chuti k jídlu a pro zlepšení činnosti jater, žlučníku a žlučových cest. V potravinách se přidávají do nápojů, jak alkoholických tak nealkoholických jako je například tonik. Při větších dávkách mohou být spíše škodlivé, způsobují překrvení a podráždění sliznice [37,38].

2.6.10 Saponiny

Saponiny jsou chemické látky, patřící do skupiny glykosidů, vyskytují se v přírodních zdrojích, především v rostlinách a samozřejmě také ve fenyklu. Název saponiny si vysloužily díky schopnosti tvořit pěnu. Saponiny ve fenyklu způsobují jeho močopudné účinky, také ovlivňují vykašlávání a mají protizánětlivé účinky. Saponiny bývají využívány i v kosmetice, kde se přidávají do zubních past a jiných kosmetických přípravků [11,39].

2.6.11 Antimikrobiální účinky

Antimikrobiální látky jsou látky působící proti mikroorganismům, které zahrnují viry, bakterie, houby a parazity, ale také antibiotika, antivirotika a antimykotika. Výtažky z fenyklu vykazují antimikrobiální aktivitu proti řadě bakterií (jako *Staphylococcus* či *Escherichia coli*), houbám a kvasinkám (jako je *Candida*). Antimikrobiální látky nejen, že působí proti škodlivým bakteriím, virům a kvasinkám, aby v těle nepůsobili nevhodně pro naše zdraví, ale také bývají používány jako konzervační činidla u potravin. Konkrétně antimikrobiální látky ve fenyklu ničí choroboplodné zárodky, které způsobují nepříjemný zápach z úst. Při tepelném opracování fenyklu se tyto účinky snižují nebo úplně zanikají.

2.7 Metody stanovení bioaktivních látek

K získání účinných látek z rostlin můžeme využít různé druhy metod.

2.7.1 UV/VIS Spektrofotometrie

UV/VIS spektrofotometrie je fyzikálně-chemická metoda, která je založena na měření absorpce záření v UV oblasti spektra, které se pohybuje v rozmezí vlnových délek 200-800 nm. Molekuly absorbují elektromagnetické záření pouze takové energie, která je přivede do vyššího excitovaného energetického stavu. U měřených vzorků dokáže určit identitu, čistotu nebo množství některé složky vzorku, pouze za předpokladu splnění podmínek. Možnost kvantitativního převedení vzorku do roztoku a schopnost analytu pohlcovat záření o vlnové délce z viditelné oblasti. Roztok byl měřen pomocí kyvety v přístroji Helios ε, kdy byl ozařován monochromatickým světlem, a toto světelné záření bylo analytem absorbováno. Na detektor poté dopadalo světlo, které nebylo absorbováno roztokem, a tento detektor měřil intenzitu tohoto dopadajícího světla [40,41].

2.7.2 Biochemické stanovení bioaktivních látek

Stanovení polyfenolů

Pro stanovení polyfenolů je ve velké oblibě používání Folin-Ciocalteuovy metody, při které dochází k oxidaci fenolů, které jsou obsaženy ve vzorku, molybdato-wolframovým reagentem. Touto oxidací vzniká barevný produkt modro-fialové barvy, který absorbuje záření při vlnové délce 750 nm. Koncentrace polyfenolů je stanovena pomocí kalibrační křivky pro kyselinu gallovou. Tato metoda je hojně užívána pro měření fenolických látek v rostlinách, bylinách, ovoci a zelenině.

Stanovení flavonoidů

Pro stanovení flavonoidů se využívá faktu, že dochází ke změně zbarvení roztoku po přidání dusitanu a hlinité soli, které indikují přítomnost flavonoidů. Vzniklé žluté komplexy jsou detekovány pomocí spektrofotometru při vlnové délce 510 nm. Koncentrace flavonoidů je stanovena pomocí kalibrační křivky pro katechin.

Stanovení antioxidační aktivity

Nejpoužívanější metodou pro stanovení antioxidační aktivity se používá metoda pomocí ABTS, někdy také nazývána jako metoda TEAC. Hlavním principem je schopnost vzorku, který obsahuje antioxidanty, zhaset kation-radikál ABTS. Tento jev je pozorován spektrofotometricky při vlnové délce 734 nm, díky modrozelenému zbarvení roztoku [42].

2.7.3 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie je jednou ze separačních metod, kdy rozdělování látky probíhá mezi dvě fáze. První fází je mobilní a druhá je stacionární. V případě HPLC je mobilní fází vždy kapalina a stacionární fází může být jak kapalina, tak i pevná látka. HPLC je dosti užívanou metodou pro analýzu bioaktivních látek a to především díky své jednoduchosti a přesnosti [43].

2.7.4 Nadkritická fluidní extrakce (SFE)

SFE je hojně užívanou metodou, avšak se jedná o instrumentálně velmi náročnou metodu. K extrakci pevného vzorku se užívá nadkritické tekutiny nejčastěji oxidu uhličitého. Výhodou u oxidu uhličitého je snadné dosažení kritické teploty a tlaku, je netoxický a nehořlavý a navíc je snadno a v přijatelné ceně dostupný. Nadkritický oxid uhličitý má nízkou viskozitu, a tak rychle proniká přes daný vzorek. SFE nahrazuje zdoluhavé extrakční metody, jako je například extrakce v Soxhletově extraktoru. SFE byla použita pro extrakci bioaktivních látek z různých druhů rostlin a bylin [44,45].

2.7.5 Mikrobiologické stanovení

Mikroorganismy můžeme najít prakticky všude, ve vodě, v půdě, ve vzduchu a například i na potravinách. V laboratořích se většinou kultivují na živná média, která musí obsahovat výživu pro tyto mikroorganismy a růstové faktory, jako jsou vitamíny a aminokyseliny. Mikroorganismy jsou často využívány pro stanovení různých látek v potravinách i jiných materiálech. Pokud živné médium neobsahuje růstové faktory, poté daný mikroorganismus logicky nemůže růst. Antimikrobiální účinky látek se projevují vytvořením inhibičních zón, přes které daný mikroorganismus neporoste. Spousta látek s antimikrobiálními účinky se poté používá jako konzervační prostředek nebo jako dezinfekční prostředek k usmrcení patogenních mikroorganismů [46].

2.7.5.1 Difúzní metody

Difúzní metody využívají tuhé agarové médium, kde je naočkovaný daný mikroorganismus. Testovaná látka difunduje médiem a způsobuje viditelnost inhibičních zón. Velikost těchto zón je závislá na několika faktorech, jako je například koncentrace testované látky, kterou považují za velmi důležitou. Další faktory jsou složení půdy, pH půdy, doba inkubace a tloušťka kultivační půdy. Dle způsobu nanášení testované látky rozlišujeme čtyři typy metod [46].

Kapková metoda – tato metoda není tolik oblíbená právě díky své nepřesnosti, postupuje se tak, že testovací látka se kape na povrch ztuhlého naočkovaného agaru

Disková metoda – tato metoda spočívá v tom, že disky o průměru 6 mm jsou nasyceny testovanou látkou a jsou kladeny na povrch ztuhlého naočkovaného agaru

Komínková – tato metoda spočívá ve vytlačení komínků ze skla nebo porcelánu tak, aby se nedošlo až na dno Petriho misky a testovaná látka se pipetuje do těchto komínků

Jamková – metoda spočívající ve vyhloubení děr pomocí skleněného korkovrtu na naočkované ztuhlé agarové plotně, do kterých se poté pipetuje testovaná látka

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Seznam použitého vybavení a pomůcek

3.1.1 Přístroje

Spektrofotometr – UV/VIS Helios ϵ (Massachusetts, USA)

Laboratorní váhy – 440-43 (KERN, Česká republika)

Vortex – MS 3 Basic (IKA, Německo)

Mobilní telefon s fotoaparátem (Xiaomi, Čína)

Osobní počítač (Dell, USA) včetně programů a funkcí

Mikropipety (Biohit Proline, Německo)

Centrifuga – MIKRO 120 (Hettich, Německo)

Autokláv – Vaposteri (BMT, Česká republika)

PARAFILM® M (Bemis, USA)

Laboratorní sklo: pipety, kádinky, odměrné baňky, odměrný válec, zkumavky

3.1.2 Chemikálie

Destilovaná voda

Sterilovaná voda

Ethanol 96% (PENTA s.r.o.)

Ethanol pro UV/VIS (VWR Chemicals)

Folin-Ciocalteuovo činidlo (Sigma – Aldrich, s.r.o.)

Uhličitan sodný (Lach – Ner, s.r.o.)

Kyselina gallová (Sigma – Aldrich, s.r.o.)

Dusitan sodný (PENTA s.r.o.)

Katechin (Sigma – Aldrich, s.r.o.)

Chlorid hlinitý (PENTA s.r.o.)

Hydroxid sodný (Lach – Ner, s.r.o.)

ABTS (Sigma-Aldrich, s.r.o.)

3.2 Analyzované vzorky

3.2.1 Použité vzorky

3.2.1.1 Fenyklový čaj

V experimentální části byl jako jeden ze vzorků využit bio fenyklový čaj od firmy Sonnentor, který byl zakoupen v obchodě se zdravou výživou.



Obrázek 8 Bio fenyklový čaj využívaný při experimentu [47]

3.2.1.2 Celé plody fenyklu

K přípravě dalších vzorků byly použity celé plody fenyklu od firmy Dafo, které se zabývají výrobou kvalitního koření. Tento výrobek byl taktéž zakoupen v obchodě se zdravou výživou.



Obrázek 9 Plody fenyklu celé využívané při experimentu

3.2.1.3 Drcené plody fenyklu

Poslední řada vzorků byla pro experimentální část připravena z drcených plodů fenyklu. Jednalo se o tytéž plody od firmy Dafo, které byly zakoupeny v obchodě se zdravou výživou.

3.2.2 Příprava vzorků

3.2.2.1 Příprava vodného extraktu z bio fenyklového čaje

Navážka 10 g bio fenyklového čaje byla zalita 100 ml sterilované vody, pro první řadu extraktů sterilovanou vodou při laboratorní teplotě a pro druhou řadu extraktů horkou sterilovanou vodou. Vše bylo ponecháno k louhování a byly odebírány vzorky v časech 0, 5, 10, 20, 40 a 80 minut vždy po 5 ml do plastových zkumavek, které byly zalepeny pomocí parafilmu. Výluhy byly ponechány v mrazničce pro další využití.

3.2.2.2 Příprava ethanolového extraktu z bio fenyklového čaje

Navážka 10 g bio fenyklového čaje byla zalita 100 ml 96% ethanolu a byla ponechána k louhování. Vzorky byly odebírány v časech 0, 5, 10, 20, 40 a 80 minut vždy po 5 ml do plastových zkumavek, které byly zalepeny pomocí parafilmu. Výluhy byly ponechány v mrazničce pro další využití.

3.2.2.3 Příprava vodného extraktu z plodů fenyklu

Navážka 10 g celých plodů fenyklu byla zalita 100 ml sterilované vody, pro první řadu extraktů sterilovanou vodou při laboratorní teplotě a pro druhou řadu extraktů horkou sterilovanou vodou. Vše bylo ponecháno k macerování a byly odebírány vzorky v časech 0, 5, 10, 20, 40 a 80 minut vždy po 5 ml do plastových zkumavek, které byly zalepeny pomocí parafilmu. Maceráty byly ponechány v mrazničce pro další využití.

3.2.2.4 Příprava ethanolového extraktu z plodů fenyklu

Navážka 10 g celých plodů fenyklu byla zalita 100 ml 96% ethanolu a byla ponechána k macerování. Vzorky byly odebírány v časech 0, 5, 10, 20, 40 a 80 minut vždy po 5 ml do plastových zkumavek, které byly zalepeny pomocí parafilmu. Maceráty byly ponechány v mrazničce pro další využití.

3.2.2.5 Příprava vodného extraktu z drcených plodů fenyklu

Navážka 10 g celých plodů fenyklu byla rozdrcena ve třecí misce, kdy nedošlo k úplnému rozmělnění na prášek. Poté byla zalita 100 ml sterilované vody, pro první řadu extraktů sterilovanou vodou při laboratorní teplotě a pro druhou řadu extraktů horkou sterilovanou vodou. Vše bylo ponecháno k macerování a byly odebírány vzorky v časech 0, 5, 10, 20, 40 a 80 minut vždy po 5 ml do plastových zkumavek, které byly zalepeny pomocí parafilmu. Maceráty byly ponechány v mrazničce pro další využití.

3.2.2.6 Příprava ethanolového extraktu z drcených plodů fenyklu

Navážka 10 g celých plodů fenyklu byla rozdrcena ve třecí misce, kdy nedošlo k úplnému rozmělnění na prášek. Poté byla zalita 100 ml 96% ethanolu a byla ponechána k macerování. Vzorky byly odebírány v časech 0, 5, 10, 20, 40 a 80 minut vždy po 5 ml do plastových zkumavek, které byly zalepeny pomocí parafilmu. Maceráty byly ponechány v mrazničce pro další využití.

3.2.3 Stanovení celkových polyfenolů spektrofotometricky

3.2.3.1 Pracovní postup

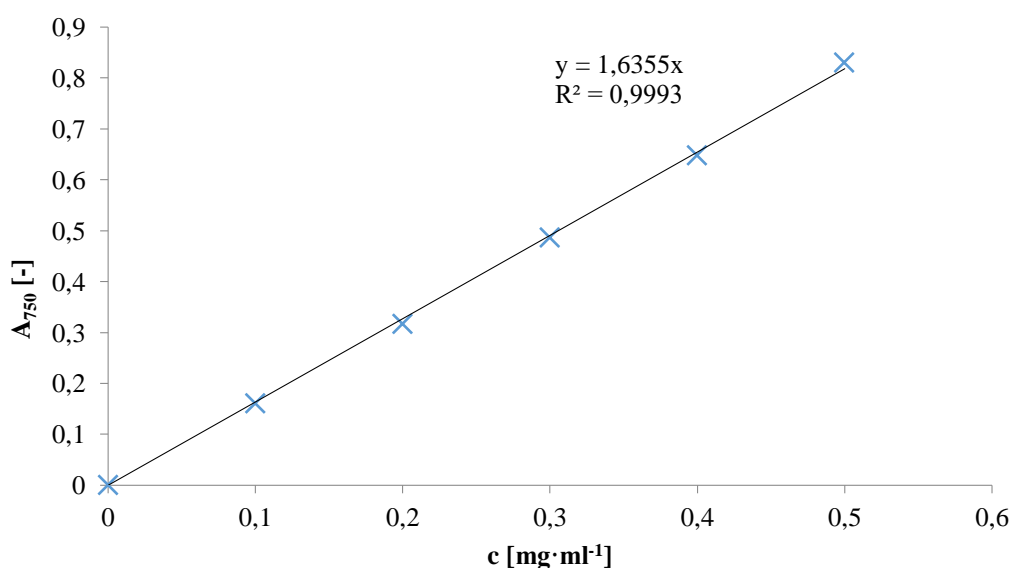
Do zkumavky bylo vždy napipetováno 1 ml Folin-Ciocalteuova činidla zředěného v poměru 1:9, 1 ml destilované vody a 50 μl extraktu vzorku. Roztok ve zkumavkách byl promíchán a ponechán stát. Po pěti minutách bylo do každé zkumavky k roztoku přidáno po 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného (24,9 g Na_2CO_3 na 150 ml destilované vody) a opět bylo vše dobře promícháno. Po 15 minutách byla změřena absorbance pomocí UV/VIS spektrofotometru při vlnové délce 750 nm. Slepý vzorek obsahoval vše, co ostatní zkumavky, avšak namísto extraktu bylo přidáno 50 μl destilované vody nebo ethanolu. Každý vzorek extraktu byl analyzován ve dvou paralelních stanoveních. Obsah celkových polyfenolů ve vzorku byl vypočítán dosazením získané absorbance vzorku do rovnice kalibrační křivky [48].

3.2.3.2 Příprava standardu a kalibrační křivky

Kalibrační křivka byla sestavena z pěti koncentrací roztoku kyseliny gallové v rozmezí 0,1–0,5 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Poté bylo postupováno stejně jako při stanovení extraktů, při stejné vlnové délce 750 nm.

Tabulka 3 Naměřené hodnoty absorbancí pro stanovení kalibrační křivky kyseliny gallové

$c[\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}]$	$A_1 [-]$	$A_2 [-]$	$A [-]$
0	0,000	0,000	0,000
0,1	0,160	0,161	0,161
0,2	0,300	0,334	0,317
0,3	0,484	0,490	0,487
0,4	0,652	0,643	0,648
0,5	0,859	0,801	0,830



Obrázek 10 Kalibrační křivka kyseliny gallové

3.2.4 Stanovení celkových flavonoidů spektrofotometricky

3.2.4.1 Pracovní postup

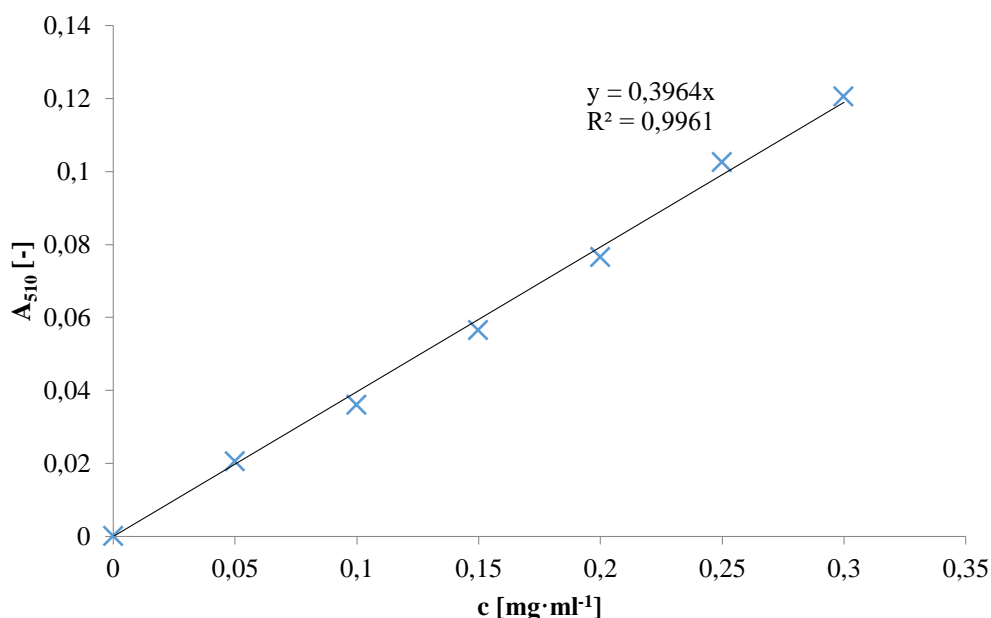
Do zkumavek bylo vždy napipetováno 0,5 ml centrifugovaného extraktu, 1,5 ml destilované vody a 0,2 ml 5% roztoku dusičnanu sodného. Roztok ve zkumavkách byl důkladně promíchán a ponechán stát 5 minut. Poté bylo do zkumavek přidáno 0,2 ml 10% roztoku chloridu hlinitého, opět bylo vše řádně promícháno a bylo odloženo na dalších 5 minut. Nakonec bylo přidáno 1,5 ml roztoku hydroxidu sodného a 1 ml destilované vody. Po 15 minutách byly vzorky analyzovány pomocí UV/VIS spektrofotometru při vlnové délce 510 nm. Slepý vzorek byl připraven z 0,5 ml extraktu a 4,4 ml destilované vody. Obsah celkových flavonoidů ve vzorku byl stanoven dosazením průměrné hodnoty absorbance vzorku do rovnice kalibrační křivky, která byla sestrojena pomocí roztoku katechinu [48].

3.2.4.2 Příprava standardu a kalibrační křivky

Kalibrační křivka byla sestrojena z šesti koncentrací v rozmezí od 0,05–0,3 mg·ml⁻¹. Dále bylo postupováno stejně jako při stanovení extraktů při stejné vlnové délce 510 nm.

Tabulka 4 Naměřené hodnoty absorbancí pro stanovení kalibrační křivky katechinu

c[mg·ml ⁻¹]	A ₁ [-]	A ₂ [-]	A [-]
0,000	0,000	0,000	0,000
0,050	0,022	0,019	0,021
0,100	0,032	0,040	0,036
0,150	0,055	0,058	0,057
0,200	0,073	0,080	0,077
0,250	0,106	0,099	0,103



Obrázek 11 Kalibrační křivka katechinu

3.2.5 Stanovení antioxidační aktivity

3.2.5.1 Pracovní postup

ABTS byl rozpuštěn v destilované vodě na koncentraci 7 mM a radikálový kation z ABTS byl získán reakcí s 2,45 mM peroxodisíranem draselným. Roztok byl ponechán ve tmě při pokojové teplotě více jak 12 hodin. Před začátkem měření byl ABTS•+ zředěn ethanolem pro UV/VIS na absorbanci $0,70 \pm 0,02$ při vlnové délce 734 nm. Jako slepý vzorek byl využit ethanol pro UV/VIS. Do zúžené kyvety bylo napipetováno 1 ml ABTS•+ a byla změřena absorbance v čase 0. K němu bylo přidáno 10 μ l extraktu vzorku a byl zaznamenán pokles absorbance v 10. minutě. Pro výpočet celkové antioxidační aktivity byla použita kalibrační křivka Troloxu v rozmezí koncentrací 50–400 μ g/ml, jejíž rovnice byla zadána vedoucím bakalářské práce [48].

Kalibrační rovnice: $A = 0,00138913 \cdot c$

3.2.6 Stanovení antimikrobiální aktivity

3.2.6.1 Příprava živného média

Jako živné médium byl použit Nutrient Agar No. 2. Do Erlenmayerových baněk bylo vždy naváženo 6 g již zmíněného agaru a tato navážka byla zalita 150 ml destilované vody. Vše bylo řádně promícháno, Erlenmayerova banka byla utěsněna vatovou zátkou a přikryta kouskem alobalu. Následně bylo živné médium vysterilováno v autoklávu po dobu dvaceti minut při teplotě 120 °C.

3.2.6.2 Použité mikroorganismy

Bakteriální kultury využity při experimentu byly pořízeny z České sbírky mikroorganismů Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně z ústavu experimentální biologie. Při experimentu byly použity mikroorganismy *Serratia marcescens* (CCM 303) a *Bacillus cereus* (CCM 2010).

Serratia marcescens

Serratia marcescens, patřící do čeledi *Enterobacteriaceae*, je pohyblivá gramnegativní tyčinka. Tento fakultativně anaerobní mikroorganismus způsobuje infekce dýchacích cest a močového ústrojí. Můžeme jej najít běžně v půdě, vodě a vzduchu [49].

Bacillus cereus

Bacillus cereus, patřící do rodu *Bacillus*, je pohyblivá grampozitivní tyčinka, která je producentem toxinů a enzymů. Jedná se o fakultativně anaerobní mikroorganismus, který velmi často způsobuje kažení potravin, zejména mléčných výrobků. Tento mikroorganismus ovšem můžeme najít i jinde než jako kontaminant potravin a to především v půdě, prachu a případně i ve vodě. Jeho životní optimum se pohybuje při teplotách 30–35 °C [50].

3.2.6.3 Pracovní postup

Do předem připravených zkumavek s tekutým živným médiem (bujón), byly zaočkovány bakteriální kultury *Serratia marcescens* a *Bacillus cereus* a zkumavky byly ponechány ke

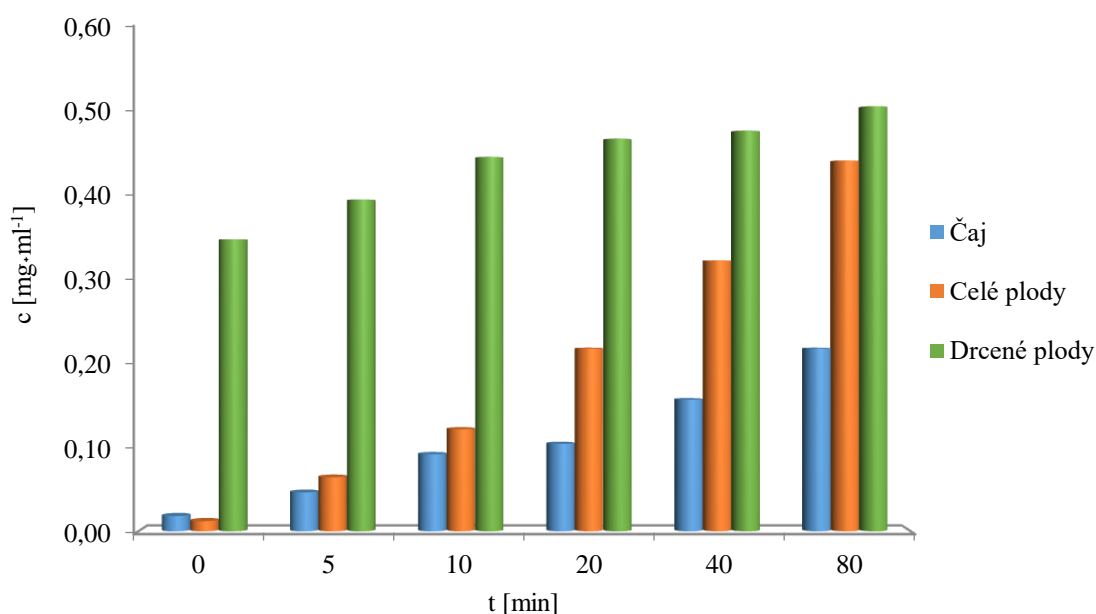
kultivaci 24 hodin při teplotě 26 °C. Po 24 hodinové kultivaci bylo napipetováno 1,5 ml této kultury do Petriho misek, které byly ihned uzavřeny a řádně popsány. Bylo dbáno na to, aby nedošlo k záměně mikroorganismů, proto byl nejdříve proveden experiment se sadou Petriho misek s mikroorganismem *Serratia marcescens* a následně s *Bacillus cereus*. Po vysterilování živného média a následném ochlazení bylo do Petriho misek přelito živné médium v dostatečném množství. Živné médium se nechalo ztuhnout a následně do něj byly vyhloubeny čtyři stejné jamky pomocí skleněného korkovrtu. Do třech jamek bylo vždy pipetováno 100 µl extraktu vzorku a do jedné slepý vzorek, kterým byla sterilovaná voda nebo ethanol, podle toho v čem byl vzorky rozpouštěny. Na závěr byly Petriho misky ponechány ke kultivaci při teplotě 26 °C. Po 72 hodinách byla vyhodnocena antimikrobiální aktivita spolu s dokumentací v podobě fotografií.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

V experimentální části byly vzorky analyzovány pomocí UV/VIS spektrofotometru, což byla převážná část měření. Ve druhé části experimentu byla práce zaměřena na ověření antimikrobiální aktivity přítomných látek ve fenyklu.

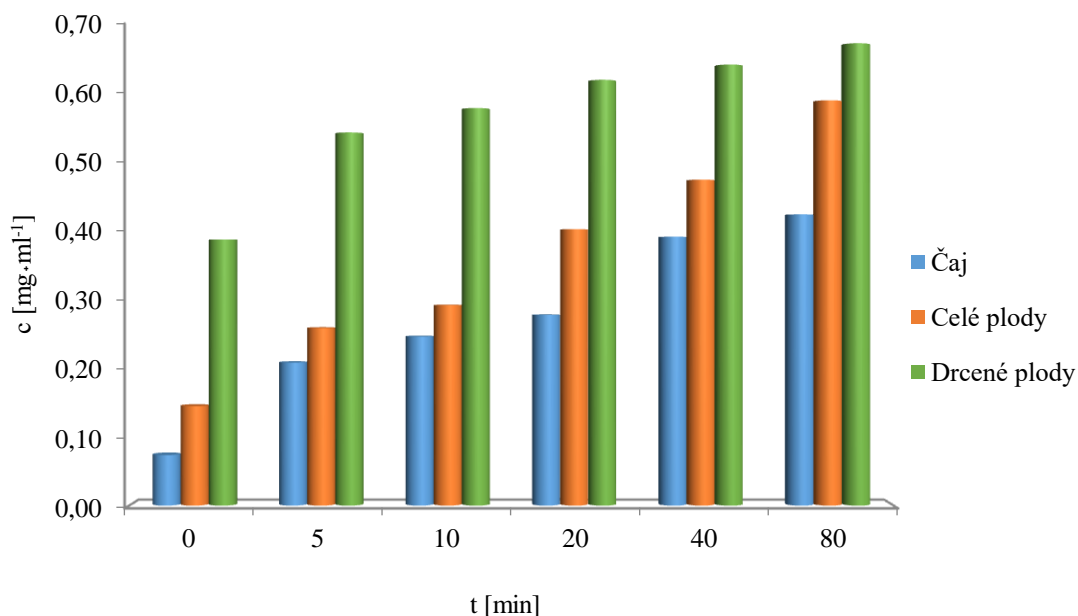
4.1 Stanovení celkových polyfenolů

Vzorky fenyklu byly měřeny ve dvou paralelních stanoveních dle daných postupů. Pro výpočet obsahu polyfenolů byly použity průměrné hodnoty naměřených absorbancí v daných časech odběru vzorků.



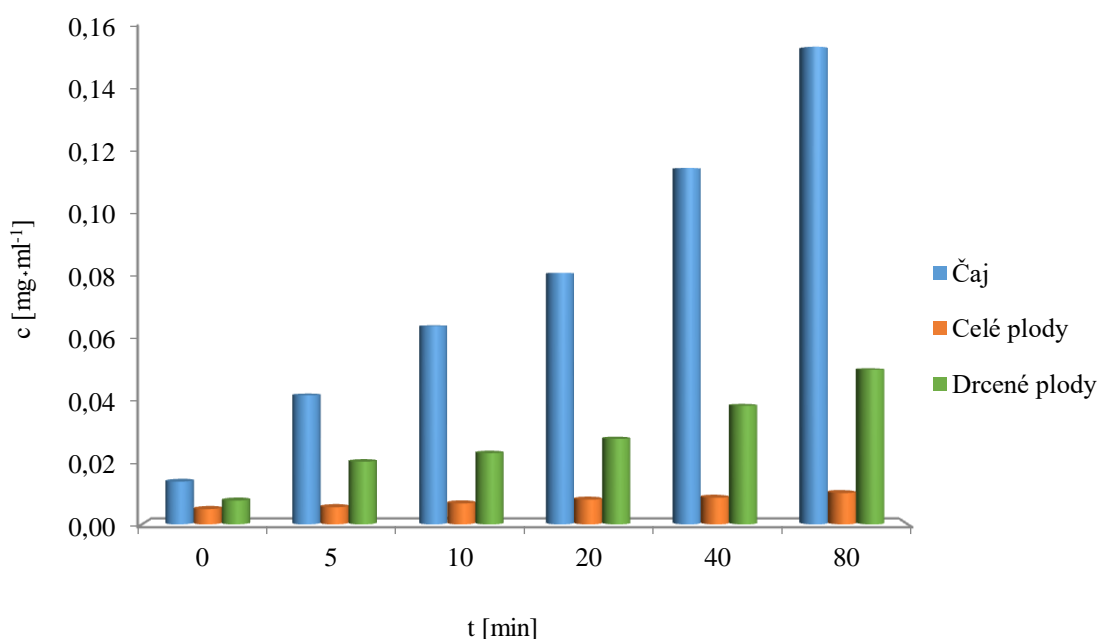
Obrázek 12 Celkový obsah polyfenolů ve vodných extraktech při laboratorní teplotě

U vodných extraktů při laboratorní teplotě byl zaznamenán postupný nárůst obsahu polyfenolů a to u všech měřených extraktů. U extraktů fenyklového čaje a u celých plodů byl tento nárůst s časem znatelnější na rozdíl od drcených plodů fenyklu, kde byl růst velmi mírný, ale na rozdíl od čaje a celých plodů byl rychlý vzrůst tohoto obsahu polyfenolů už v čase 0 minut. To bylo způsobeno rozdrcením plodů fenyklu a tím i rychlejší uvolnění obsahujících látek. Nejvyšší koncentrace polyfenolových látek byla naměřena u drcených plodů fenyklu a to $507,80 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.



Obrázek 13 Celkový obsah polyfenolů ve vodných extraktech při horké vodě

U vodných extraktů v horké vodě byl opět zaznamenán postupný nárůst obsahu polyfenolů, avšak v horké vodě docházelo k rychlejšímu nárůstu než u vodných extraktů při laboratorní teplotě. Například u fenyklového čaje můžeme vidět rychlejší nárůst už v prvních minutách u horké vody na rozdíl od extraktů při laboratorní teplotě, kdy byl nárůst minimální. Nejvyšší koncentrace polyfenolových látek byla naměřena u drcených plodů fenyklu a to $675,02 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Opět nejvyšších hodnot dosahují drcené plody fenyklu, které při rozdrcení a navíc působením horkou vodou rychleji do rozpouštědla uvolňovaly obsahující látky.

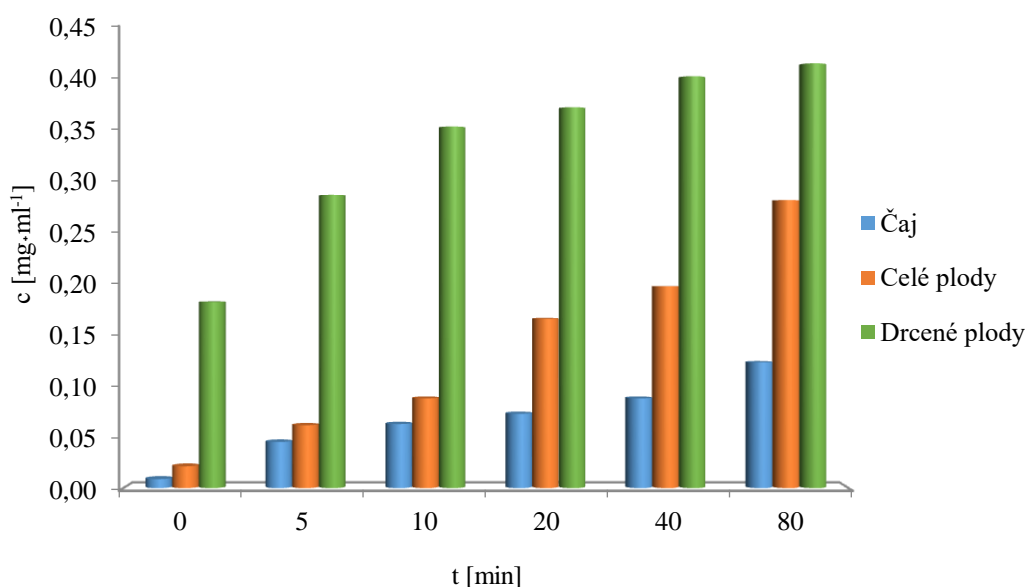


Obrázek 14 Celkový obsah polyfenolů v ethanolových extraktech

U ethanolových extraktů byl zaznamenáván nárůst obsahu polyfenolů, jako u předešlých vodných extraktů. Nejprudší nárůst byl pozorován u fenyklového čaje, což mohlo být způsobeno tím, že se ethanol projevil jako lepší rozpouštědlo než voda. Nejvyšší koncentrace polyfenolových látek byla naměřena u bio fenyklového čaje a to $154,08 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

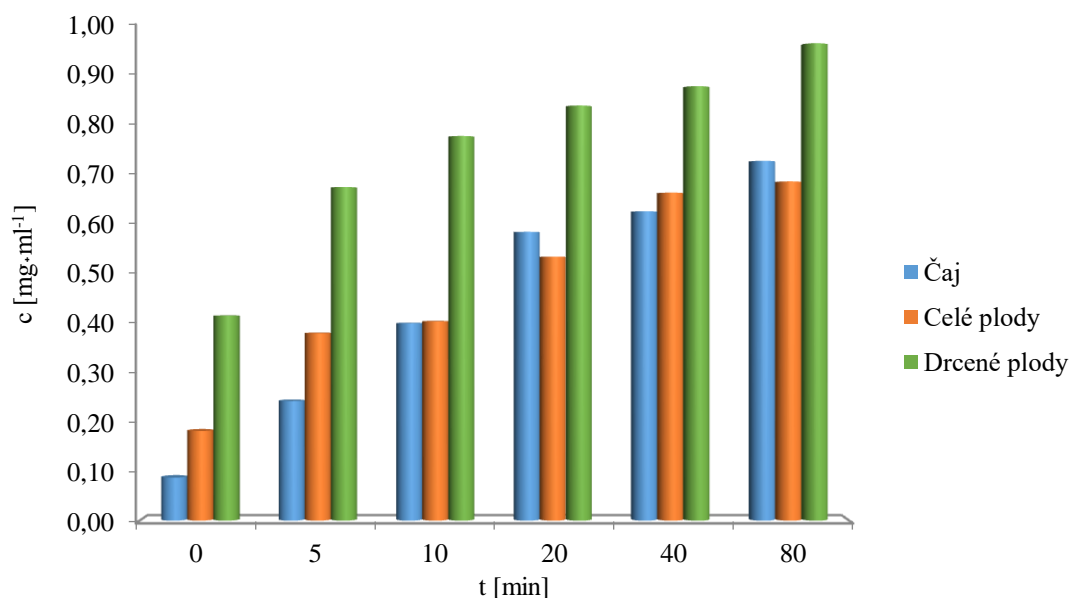
4.2 Stanovení celkových flavonoidů

Vzorky fenyklu byly měřeny ve dvou paralelních stanoveních dle uvedeného postupu. Pro výpočet obsahu flavonoidů byly použity průměrné hodnoty naměřených absorbancí v daných časech odběru vzorků.



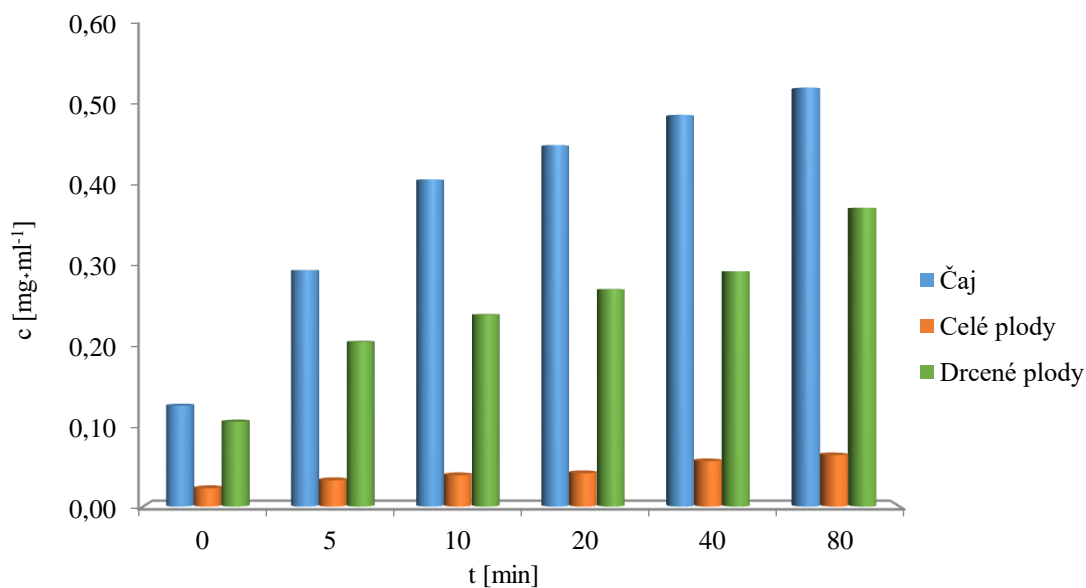
Obrázek 15 Celkový obsah flavonoidů ve vodných extraktech při laboratorní teplotě

U vodných extraktů při laboratorní teplotě byl opět zaznamenán postupný nárůst obsahu flavonoidů u všech extraktů. Nejvyšší koncentrace flavonoidů byla naměřena u drcených plodů fenyklu a to $416,25 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Nejvyšších hodnot dosahovaly již zmíněné drcené plody fenyklu, jejichž nárůst byl postupný, avšak dosahoval výrazně vyšších hodnot než u fenyklového čaje a celých plodů. Drcené plody vykazovaly vyšších hodnot, protože díky rozdrobení se obsahové látky lépe uvolňovaly.



Obrázek 16 Celkový obsah flavonoidů ve vodných extraktech při horké vodě

U vodných extraktů v horké vodě byl opět zaznamenán postupný nárůst obsahu flavonoidů. Nejvyšší koncentrace flavonoidů byla naměřena u drcených plodů fenyklu na $967,46 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. Nárůst hodnot u drcených plodů fenyklu byl postupný a opět se prokazovalo, že díky rozdrčení se látky lépe uvolňovaly. Vzorky čaje a celých plodů vykazovaly postupný růst podobného rázu bez nijak výrazně znatelných výkyvů.



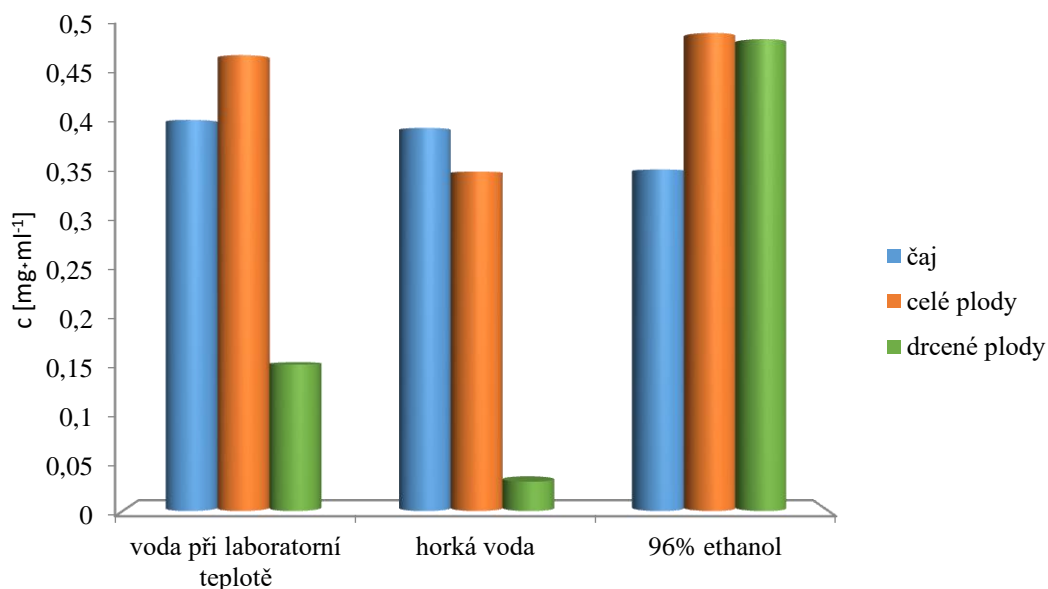
Obrázek 17 Celkový obsah flavonoidů v ethanolových extraktech

U ethanolových extraktů byl zaznamenáván nárůst obsahu flavonoidů, jako u předešlých vodných extraktů. Nejprudší nárůst byl pozorován u fenyklového čaje, což mohlo být způsobeno tím, že se ethanol projevil jako lepší rozpouštědlo než voda. Nejvyšší koncentrace

flavonoidů byla naměřena u bio fenyklového čaje na $523,46 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Podobný vzrůst měly drcené plody fenyklu a znatelně menší měly celé plody fenyklu.

4.3 Stanovení celkové antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita byla stanovena u všech vzorků dle uvedeného postupu. Do uvedeného grafu byla zaznamenána antioxidační aktivita u vzorků s nejvyšší koncentrací, které byly také užívány do následného mikrobiologického stanovení.



Obrázek 18 Celková antioxidační aktivita nejkonzentrovanejších extraktů

Nejmenší antioxidační aktivitu vykazovaly drcené plody fenyklu macerované v horké vodě, jejichž celková aktivita dosahovala pouze $30,23 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Naopak nejvyšší antioxidační aktivity bylo dosaženo u celých plodů fenyklu macerovaných v ethanolu a to $495,63 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. To, jak již bylo zmíněno, může být způsobené tím, že je ethanol velmi dobrým rozpouštědlem.

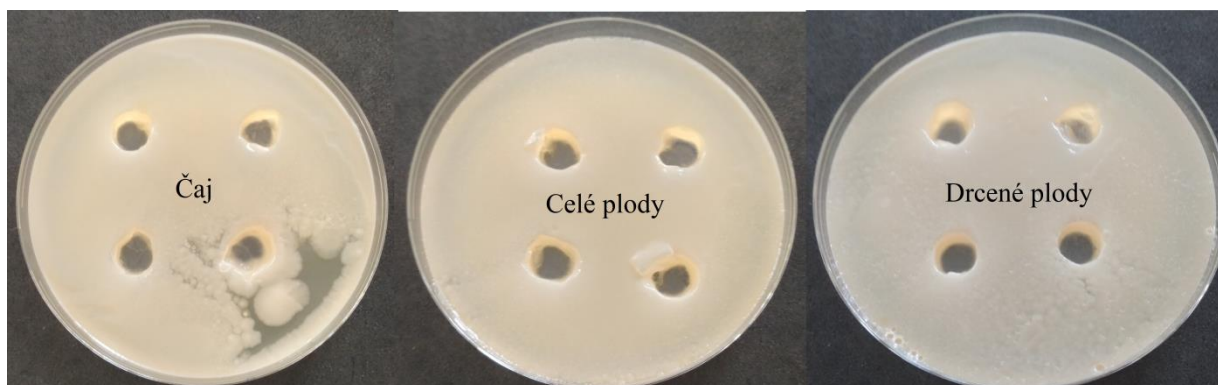
V tabulce 5, jsou zaznamenány nejvyšší hodnoty analyzovaných vzorků z daného experimentu. V příloze, v tabulkách 6 – 11 jsou naměřená data všech polyfenolů a flavonoidů.

Tabulka 5 Výsledný celkový obsah měřených bioaktivních látek ve vodných a ethanolových extraktech

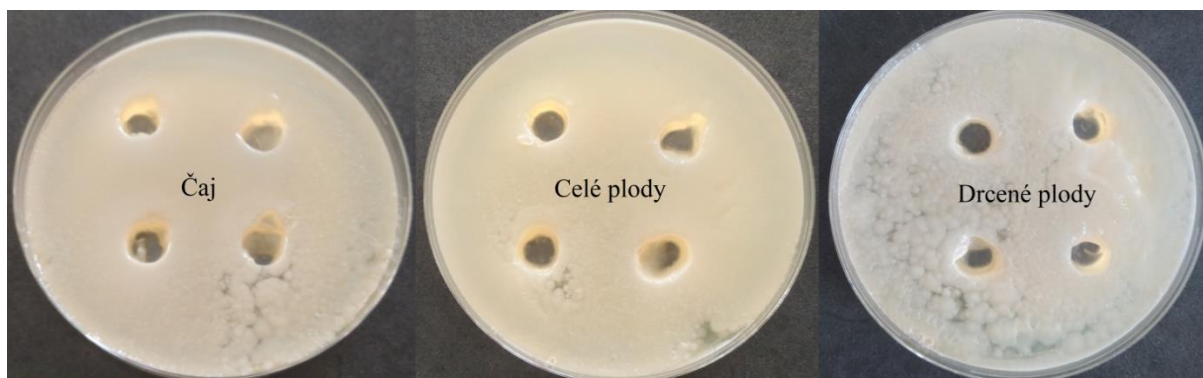
Rozpouštědlo	Vzorky	Celkový obsah polyfenolů [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Celkový obsah flavonoidů [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Celková antioxidační aktivita [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
Voda při laboratorní teplotě	Čaj	219,51	123,61	405,29
	Celé plody	443,29	282,54	472,60
	Drcené plody	507,80	416,25	151,17
Horká voda	Čaj	424,64	729,06	397,01
	Celé plody	591,56	687,44	351,66
	Drcené plody	675,02	967,46	30,23
96 % ethanol	Čaj	154,08	523,46	353,82
	Celé plody	10,09	64,33	495,63
	Drcené plody	49,83	373,36	489,16

4.4 Stanovení antimikrobiální aktivity

Pro stanovení antimikrobiální aktivity byly využity vzorky s nejvyšší koncentrací, které byly vybrány u stanovení polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivity. Dle uvedených fotografií je patrné, že účinek extraktů byl nepatrný v některých případech až zanedbatelný na aplikované mikroorganismy *Serratia marcescens* a *Bacillus cereus*

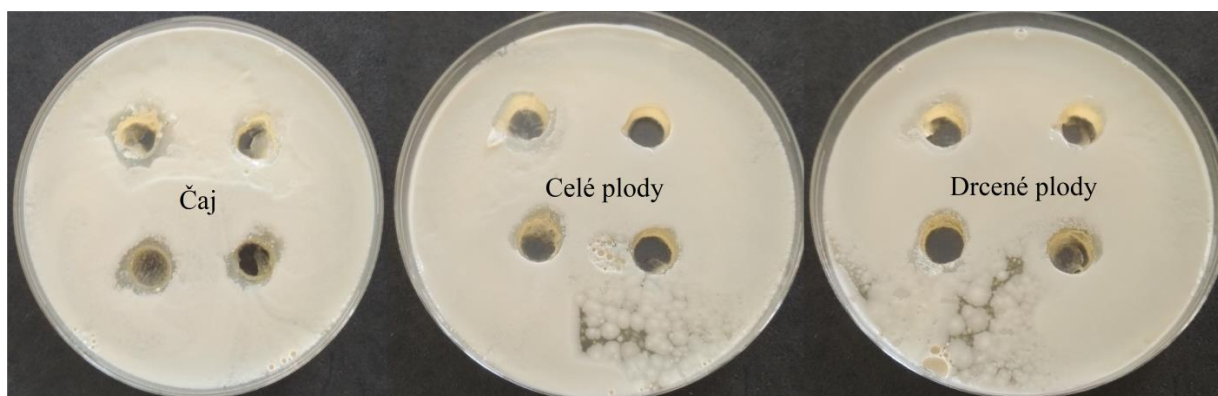


Obrázek 19 Antimikrobiální účinky extraktů při laboratorní teplotě aplikovaných na mikroorganismus *Bacillus cereus*



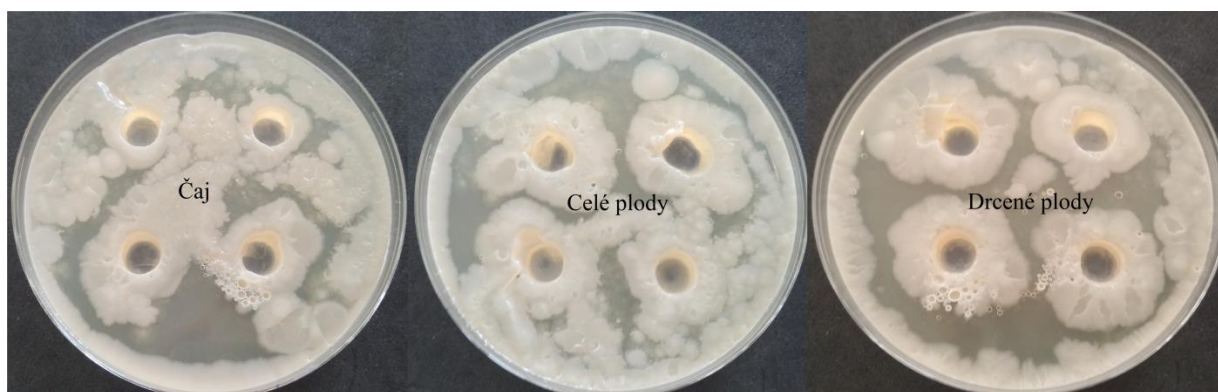
Obrázek 20 Antimikrobiální účinky extraktů v horké vodě aplikovaných na mikroorganismus *Bacillus cereus*

Na obrázku 19 a 20 u extraktů v horké vodě a laboratorní teplotě nedošlo při vyhodnocení ke vzniku inhibičních zón.



Obrázek 21 Antimikrobiální účinky extraktů v ethanolu aplikovaných na mikroorganismus *Bacillus cereus*

Na obrázku 21 u extraktů v ethanolu došlo ke vzniku inhibičních zón. Nejvíce patrné jsou u fenyklového čaje, kde velikost této zóny byla 1,2 cm. U ostatních vzorků jsou tyto zóny dost malé, proto jejich velikost nebyla měřena.

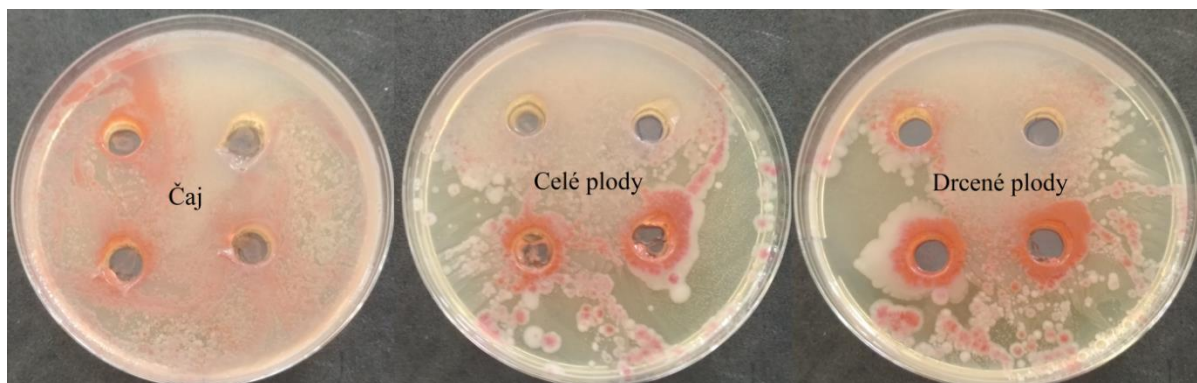


Obrázek 22 Antimikrobiální účinek extraktů v horké vodě aplikovaných na mikroorganismus *Bacillus cereus*

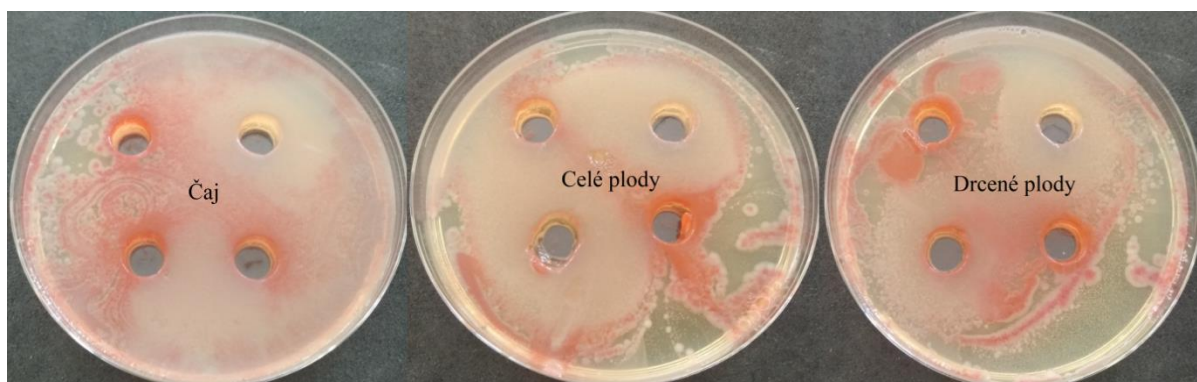
Na obrázku 22 můžeme vidět účinky extraktů v horké vodě. Tyto extrakty byly řízeny podle výsledků antioxidační aktivity, jedná se tedy o vzorky odebírané v čase 0 minut. U těchto extraktů není zpozorován vznik inhibičních zón, ale naopak spíše podpora růstu daného mikroorganismu *Bacillus cereus*.

Na obrázcích 23, 24 a 25 účinky extraktů nejsou opět zpozorovány.

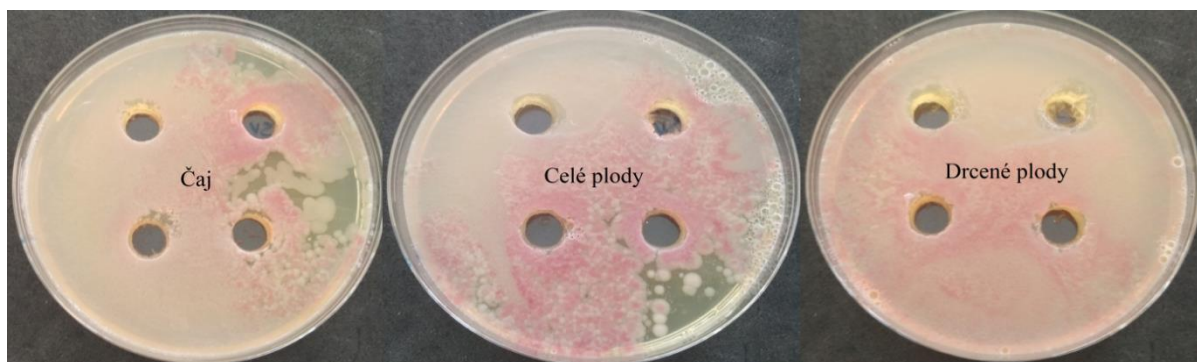
V místech, kde nedošlo ke vzniku inhibičních zón je pravděpodobné, že extrakty nebyly dostatečně koncentrované. Na zadané mikroorganismy *Bacillus cereus* a *Serratia marcescens* by byly s největší pravděpodobností účinné extrakty koncentrovanějších, například odebírané v delších časových intervalech.



Obrázek 23 Antimikrobiální účinky extraktů při laboratorní teplotě aplikovaných na mikroorganismus *Serratia marcescens*



Obrázek 24 Antimikrobiální účinek extraktů v horké vodě aplikovaných na mikroorganismus *Serratia marcescens*



Obrázek 25 Antimikrobiální účinek extraktů v ethanolu aplikovaných na mikroorganismus *Serratia marcescens*

5 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo prostudovat rostlinu fenykl obecný po různých stránkách. Teoretická část byla zaměřena na charakteristiku rostliny, její použití a na to, jaký účinek má na náš organismus. Důležitou součástí teoretické části bylo zjistit, jaké bioaktivní látky se v něm nacházejí a jaký mají vliv na naše zdraví. Experimentální část byla rozdělena do dvou hlavních okruhů. První část byla soustředěna na stanovení celkového obsahu polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivity, kdy tři přidělené vzorky bio fenyklový čaj, celé plody fenyklu a drcené plody byly extrahovány ve vodě při laboratorní teplotě, v horké vodě a v 96 % ethanolu. Vzorky byly odebírány v časech 0, 5, 10, 20, 40 a 80 minut. Jako nejkoncentrovanější extrakty se projeví ty, které byly odebírané v čase 80 minut. U těchto extraktů byl stanoven celkový obsah polyfenolů flavonoidů a antioxidační aktivity. Druhou částí bylo mikrobiologické stanovení, které bylo prováděno difúzní jamkovou metodou pomocí dvou mikroorganismů *Serratia marcescens* a *Bacillus cereus*. Jako vzorky k danému experimentu byly použity vodné a ethanolové extrakty z bio fenyklového čaje, z celých plodů fenyklu a z drcených plodů. Jako první mikroorganismus byl aplikován *Bacillus cereus*. Ke stanovení antimikrobiální aktivity byly použity nejkoncentrovanější vzorky, kdy podle polyfenolů a flavonoidů se extrakty při laboratorní teplotě a v horké vodě nijak antimikrobiálně neprojevily. U ethanolových extraktů došlo k nárůstu inhibičních zón, které byly nejlépe viditelné u extraktu bio fenyklového čaje, jehož inhibiční zóna měřila 1,2 cm. Naopak podle antioxidační aktivity došlo u extraktů v horké vodě k podpoře růstu mikroorganismu, nikoliv ke vzniku inhibičních zón. Extrakty aplikované na mikroorganismus *Serratia marcescens* se nijak neprojevovaly, nedošlo ke vzniku inhibičních zón.

6 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] KLEMENTA, Jan. *Bylinky* [online]. 2013, 9. 4. 2013 [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: <http://www.bylinky.info/fenykl-obecný>
- [2] JAHODOVÁ, Renáta. *Moudrost přírodního léčení*. Brno-Líšeň, 2015.
- [3] Lenny Kavalířová. *Roots* [online]. 2017 [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: <https://www.casopisroots.cz/fenykl-obecný-foeniculum-vulgare/>
- [4] MARVAN, Zdenko. *Byliny.cz* [online]. [cit. 23. 4. 2018]. Dostupný z: https://www.byliny.cz/27-thickbox_default/fenykl-plod.jpg
- [5] [Z FRANCOUZSKÉHO ORIGINÁLU PŘELOŽILY HELENA BEGUIVINOVÁ a Hana MÜLLEROVÁ]. *Rostlinná medicína*. Praha: Reader's Digest Výběr, 2003. ISBN 978-808-6196-732.
- [6] DUGAS, Dionýz. *Bylinkový receptář: nejlepší recepty lidové medicíny*. Praha: Ottovo nakladatelství, 2012. ISBN 978-80-7451-062-5.
- [7] ŽUFÁNEK, Martin a Absinthe MAFIA. Absinth. *Český Absintový Almanach* [online]. 2010 [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: <http://www.absinthe.cz/zaklad/z-jakych-ingredienci-se-sklada-absinthe/>
- [8] In: *Ireceptář* [online]. 2010 [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://www.ireceptar.cz/res/archive/113/013795.jpg?seek=1281005601>
- [9] *Bylinky dnes* [online]. 2015 [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: <http://bylinkydnes.cz/lahodny-fenykl-je-univerzalnim-lecivem/>
- [10] KOPECKÁ, Hana. Bylinkový herbář. *Just nahrin* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://www.justnahrin.cz/bylina/fenykl-obecný>
- [11] DITTRICH, Kathi a Claus LEITZMANN. *Bioaktivní látky proti rakovině a infarktu*. Olomouc: Fontána, 1999. ISBN 80-861-7951-6.
- [12] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-808-6659-176.
- [13] DEVLIN, Thomas M. *Textbook of biochemistry: with clinical correlations*. 4th ed. New York: Wiley, c1997. ISBN 04-711-5451-2.
- [14] *Fytochemikálie. Bezpečnost potravin* [online]. Praha [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92307.aspx>
- [15] DR. MERCOLA. Téměř vše o antioxidantech. *Nejen léky* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://www.nejenleky.cz/content/38-temer-vse-o-antioxidantech>
- [16] ALLEN, Susan. *Jídlo léčí: převratná stravovací strategie boje proti nemoci od nachlazení po osteoporózu*. Praha: Reader's Digest, 2010. ISBN 978-80-7406-107-3.

- [17] BACHTÍKOVÁ, Renata. Polyfenoly I. Důležitost pro naše tělo. *Česko zdravě* [online]. 2017 [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://ceskozdrave.cz/polyfenoly-i-dulezitost-nase-telo/>
- [18] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902-3915-3.
- [19] Flavonoidy. *Super potraviny* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://superpotraviny.webnode.cz/pojmy/antioxidanty/flavonoidy/>
- [20] Rutin a jeho význam pro zdraví. *Vitamíny- doktorka* [online]. 2018 [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <http://vitaminy.doktorka.cz/rutin-a-jeho-vyznam-pro-zdravi/>
- [21] Rutin. In: *Phytochemicals* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <http://www.phytochemicals.info/phytochemicals/rutin.php>
- [22] Kvercetin a jeho přínosy pro naše zdraví. *Rehabilitace info* [online]. 2017 [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <http://www.rehabilitace.info/zdravotni/kvercetin-quercetin-a-jeho-prinosy-pro-nase-zdravi/>
- [23] ARNDT, PharmDr.Tomáš. Kvercetin. *Celostní medicína* [online]. 2017 [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://www.celostnimedicina.cz/kvercetin.htm>
- [24] Vitamín B. *Zdraví a nemoc* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <http://www.zdravianemoc.cz/vitamin-b.html>
- [25] Vitamín C. *Aminomax* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <http://www.aminomax.cz/vitamin-c.php>
- [26] Vitamín E. *Moje vitamíny* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://www.mojevitaminy.cz/vitamin-e/>
- [27] Vitamín E. *Doplňky Vitalion* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://doplanky.vitalion.cz/vitamin-e/>
- [28] Isoprenoidy. *Moje chemie* [online]. 2015 [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <http://www.mojechemie.cz/Biochemie:Isoprenoidy>
- [29] Fenykl obecný. *Pro zdravé žití* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <http://www.prozdraveziti.cz/fenykl-obecny>
- [30] HITCHCOCK, Serene. What is anethole. *Trusted health products* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://www.trustedhealthproducts.com/blog/skin-care/what-is-anethole>
- [31] ROZINKOVÁ, Mgr. Ing. Markéta. Fenykl obecný. *Celostní medicína* [online]. 2018 [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://www.celostnimedicina.cz/fenykl-obecnny-blahodarna-bylinka-se-sirokym-spektr-em-vyuziti.htm>
- [32] SUKOVÁ, Ing. Irena. Estragol. *Agro navigátor* [online]. 2002 [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=1&typ=1&val=9226&ids=305>
- [33] *Složení kosmetiky* [online]. 2016 [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://www.slozeni-kosmetiky.cz/limonene>

- [34] Pinen. *Health benefits of pinen* [online]. 2016 [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <http://ayurvedicoils.com/tag/health-benefits-of-a-pinene>
- [35] Camphene. *Health benefits of Camphene* [online]. 2016 [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://ayurvedicoils.com/tag/health-benefits-of-camphene>
- [36] Kumariny. *Bylinář* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: http://www.ped.muni.cz/wchem/sm/dp/davidova/www_ucitele1/kumariny.html
- [37] ARNDT, PharmDr.Tomáš. Hořčičny. *Celostní medicína* [online]. 2013 [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://mojebylinky.cz/bylinky/obsahove-latky-rostlin-horciny/>
- [38] Obsahové látky rostlin. *Moje bylinky* [online]. 2016 [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://mojebylinky.cz/bylinky/obsahove-latky-rostlin-horciny/>
- [39] ARNDT, PharmDr.Tomáš. Saponiny. *Celostní medicína* [online]. 2009 [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://www.celostnimedicina.cz/saponiny.htm>
- [40] BEKÁREK, Vojtěch a Iveta FRYŠOVÁ. *Optické metody v chemické analýze*. 3. přepracované vydání. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2007. ISBN 978-80-244-1754-7
- [41] NĚMCOVÁ, I. ČERMÁKOVÁ, L. a RYCHLOVSKÝ, P. *Spektrometrické analytické metody*. Praha: Karolinum, 1997. ISBN 80-7184-365-2.
- [42] PAULOVÁ, Hana, Hana BOCHOŘÁKOVÁ a Eva TÁBORSKÁ. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy*. 2004, (98), 174-179.
- [43] MICHALÍKOVÁ, A. *Flavonoidy a další biologicky aktivní látky v rakytníku*. Praha: Univerzita Karlova v Praze, Fakulta přírodovědecká, 2014. 42 s. Vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Jiří Hudeček, CSc.
- [44] Extrakční techniky. *Mendel University in Brno* [online]. [cit. 2018-04-26]. Dostupné z: https://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/zobraz_cast.pl?cast=52968
- [45] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.
- [46] VESELÁ, Mária. *Praktikum z obecné mikrobiologie*. Vyd. 3. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2004. ISBN 8021425679.
- [47] Fenykl čaj bio. In: *Kavárna na kopečku* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: https://kavarnanakopecku.eu/_files/200001365-973a498c51/fenykl-caj-bio-porcovany-jednokomorovy6_w413.png
- [48] MÁROVÁ, Ivana a Stanislav OBRUČA. *Vybrané instrumentální úlohy z aplikované biochemie*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013. ISBN 9788021447882.
- [49] MOSIO, Petra. *Atlas bakterií*. Vyd. 1. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2012. ISBN 978-80-7395-467-3.

- [50] *Bacillus cereus*. *Alimentární onemocnění* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/bc/bc.html>

7 SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

ABTS	2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonové kyseliny)
TEAC	„Trolox equivalent antioxidant capacity“
TROLOX	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina
UV	záření v ultrafialové oblasti spektra
VIS	záření ve viditelné oblasti spektra
A	absorbance
HPLC	High-performance liquid chromatography
SFE	Supercritical Fluid Extraction
CCM	Czech Collection of Microorganisms

8 PŘÍLOHY

Tabulka 6 Naměřené hodnoty absorbancí pro stanovení polyfenolů při laboratorní teplotě

Čaj, Celé plody, Drcené plody	A ₁	A ₂	A	A ₁	A ₂	A	A ₁	A ₂	A
0	0,027	0,033	0,030	0,022	0,018	0,020	0,587	0,556	0,572
5	0,083	0,07	0,077	0,118	0,095	0,107	0,675	0,623	0,649
10	0,154	0,149	0,152	0,211	0,191	0,201	0,762	0,702	0,732
20	0,183	0,161	0,172	0,373	0,345	0,359	0,770	0,765	0,768
40	0,270	0,248	0,259	0,541	0,52	0,531	0,787	0,779	0,783
80	0,363	0,355	0,359	0,732	0,718	0,725	0,859	0,802	0,831

Tabulka 7 Naměřené hodnoty absorbancí pro stanovení polyfenolů v horké vodě

Čaj, Celé plody, Drcené plody	A ₁	A ₂	A	A ₁	A ₂	A	A ₁	A ₂	A
0	0,126	0,114	0,120	0,270	0,203	0,237	0,639	0,630	0,635
5	0,355	0,325	0,340	0,449	0,396	0,423	0,888	0,893	0,891
10	0,406	0,398	0,402	0,466	0,488	0,477	0,936	0,962	0,949
20	0,469	0,438	0,454	0,663	0,655	0,659	1,025	1,008	1,017
40	0,658	0,624	0,641	0,786	0,769	0,778	1,079	1,027	1,053
80	0,702	0,687	0,695	0,965	0,970	0,968	1,106	1,102	1,104

Tabulka 8 Naměřené hodnoty absorbancí pro stanovení polyfenolů v ethanolu

Čaj, Celé plody, Drcené plody	A ₁	A ₂	A	A ₁	A ₂	A	A ₁	A ₂	A
0	0,025	0,02	0,023	0,010	0,006	0,008	0,012	0,013	0,013
5	0,073	0,063	0,068	0,010	0,008	0,009	0,035	0,031	0,033
10	0,115	0,094	0,105	0,012	0,010	0,011	0,036	0,039	0,038
20	0,135	0,13	0,133	0,014	0,012	0,013	0,043	0,047	0,045
40	0,199	0,177	0,188	0,015	0,013	0,014	0,068	0,057	0,063
80	0,261	0,243	0,252	0,017	0,016	0,017	0,085	0,078	0,082

Tabulka 9 Naměřené hodnoty absorbancí pro stanovení flavonoidů při laboratorní teplotě

Čaj, Celé plody, Drcené plody	A ₁	A ₂	A	A ₁	A ₂	A	A ₁	A ₂	A
0	0,002	0,005	0,004	0,009	0,008	0,009	0,065	0,080	0,073
5	0,017	0,019	0,018	0,026	0,023	0,025	0,109	0,119	0,114
10	0,024	0,026	0,025	0,036	0,034	0,035	0,137	0,144	0,141
20	0,027	0,031	0,029	0,07	0,062	0,066	0,145	0,151	0,148
40	0,034	0,036	0,035	0,082	0,075	0,079	0,161	0,159	0,160
80	0,047	0,051	0,049	0,114	0,110	0,112	0,167	0,163	0,165

Tabulka 10 *Naměřené hodnoty absorbancí pro stanovení flavonoidů v horké vodě*

Čaj, Celé plody, Drcené plody	A ₁	A ₂	A	A ₁	A ₂	A	A ₁	A ₂	A
0	0,028	0,041	0,035	0,073	0,071	0,072	0,159	0,17	0,165
5	0,089	0,103	0,096	0,141	0,160	0,151	0,265	0,271	0,268
10	0,146	0,171	0,159	0,145	0,175	0,160	0,300	0,318	0,309
20	0,230	0,234	0,232	0,201	0,223	0,212	0,328	0,339	0,334
40	0,242	0,255	0,249	0,259	0,268	0,264	0,342	0,356	0,349
80	0,286	0,292	0,289	0,270	0,275	0,273	0,379	0,388	0,384

Tabulka 11 *Naměřené hodnoty absorbancí pro stanovení flavonoidů v ethanolu*

Čaj, Celé plody, Drcené plody	A ₁	A ₂	A	A ₁	A ₂	A	A ₁	A ₂	A
0	0,048	0,052	0,050	0,009	0,009	0,009	0,043	0,041	0,042
5	0,114	0,120	0,117	0,013	0,013	0,013	0,080	0,083	0,082
10	0,159	0,165	0,162	0,015	0,016	0,016	0,090	0,100	0,095
20	0,172	0,186	0,179	0,016	0,017	0,017	0,105	0,110	0,108
40	0,190	0,198	0,194	0,023	0,022	0,023	0,111	0,122	0,117
80	0,206	0,209	0,208	0,026	0,025	0,026	0,142	0,154	0,148